

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON
Année scolaire 1920-1921. — N° 269

Travail du Laboratoire d'Hygiène de la Faculté de Médecine
et du Service des sérums de l'Institut Bactériologique de Lyon.

LES TYPES DE BACILLES DIPHTÉRIQUES
Valeur Thérapeutique
Du Sérum Antidiphtérique Antimicrobien

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 11 Juillet 1921

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Paul DURAND

Né le 17 mars 1886, à Saint-Siméon-de-Bressieux (Isère)

Licencié ès-sciences

Ancien interne des Hôpitaux de Lyon

Préparateur d'Hygiène à la Faculté de Médecine de Lyon

Chef du service des sérums à l'Institut bactériologique de Lyon.



TREVoux
IMPRIMERIE JULES JEANNIN

1921

PUBLICATIONS ANTÉRIEURES

- BONNAMOUR ET D. — Sur un cas de pleurésie hémorragique avec bilirubigénie et urobiliginie pleurales. (XII^e Congrès français de Médecine. Lyon 1911.
- ROLLET ET D. — Mensuration des protrusions oculaires. L'exophtalmie dans l'atrophie optique (*Revue générale d'ophtalmologie*, 31 mai 1922).
- LESIEUR ET D. — Méthode de coloration élective des crochets d'échinocoques (Soc. des Sciences méd. de Lyon, 10 juillet 1912. *Lyon Méd.*, 17 novembre 1912.
- F. ARLOING ET D. — Sur l'anaphylaxie sérique croisée (Rapport à la Caisse des Recherches scientifiques 1913).
- P. COURMONT ET D. — Pneumococcie à forme typhoïde apyrétique diagnostiquée par l'inoculation du sang à la souris (Soc. Méd. des Hôp. de Lyon, 11 février 1913). *Lyon Méd.*, 23 février 1913.
- P. COURMONT ET D. — Signification de la présence et du nombre des pneumocoques dans le sang, au cours des pneumonies (Soc. Méd. des Hôp. de Lyon, 25 février 1913. *Lyon Méd.*, 9 mars 1913).
- P. COURMONT ET D. — Action des lavements de salvarsan sur certaines formes de tuberculose (Soc. Méd. des Hôpit. de Lyon, 10 juin 1913. *Lyon Méd.*, 20 juillet 1913).

- SANTY ET D. — Tuberculose iléo-cœcale hypertrophique chez une tuberculose pulmonaire. Intervention. Traitement arsénobenzolique. Amélioration considérable (Soc. Méd. des Hôp. de Lyon, 3 juin 1913, *Lyon Méd.*, 4 août 1913).
- BOUCHUT ET D. — Ulcus duodéno-pylorique coexistant avec deux ulcus de la petite courbure gastrique (Soc. des Sciences Méd. de Lyon, 25 juin 1913. *Lyon Méd.*, 9 nov. 1913).
- BÉRIEL ET D. — Démonstration sur le vivant de la présence du tréponème dans le cerveau des paralytiques généraux (Soc. Méd. des Hôp. de Lyon, 11 novembre 1913. *Lyon Méd.*, 23 nov. 1913).
- BÉRIEL ET D. — Sur les paralysies respiratoires.
- I. La respiration en bascule par paralysie pariétale (*Lyon Méd.*, 16 nov. 1913).
 - II. La respiration en bascule phréno-paralytique (*Lyon Méd.*, 13 nov. 1913).
 - III. Les paralysies incomplètes du diaphragme ou des intercostaux (*Lyon Méd.*, 30 nov. 1913).
- BÉRIEL ET D. — Méningite tuberculeuse avec association de méningocoque (Soc. Méd. des Hôp. de Lyon, 18 nov. 1913. *Lyon Méd.*, 30 nov. 1913).
- D. — Etiologie de l'herpès dans la méningite cérébro-spinale. Présence du méningocoque dans les vésicules (Soc. Méd. des Hôp. de Lyon, 18 nov. 1913. *Lyon Méd.*, 30 nov. 1913).
- BÉRIEL, D. ET MALESPINE. — Syndrome de Babinski-Nageotte. Ramolissement syphilitique du cervelet. Gommès de la surrénale (Soc. Méd. des Hôp. de Lyon, 25 nov. 1913. *Lyon Méd.*, 7 déc. 1913).
- BÉRIEL ET D. — Ein therapeutisches Versuch in Tabes und Paralysis progressiva : arachnoïdalen Injectionen von Serum aus Syphilitikern (*Neurologisches Centralblatt*, 1 janv. 1914).
- BÉRIEL ET D. — Note sur la cytologie comparée du liquide céphalo-rachidien dans les méninges crâniennes et dans le cul-de-sac lombaire chez les paralytiques généraux (Soc. Méd. des Hôp. de Lyon, 6 janv. 1914).

- BÉRIEL ET D. — Note pour servir à l'étude d'un traitement du tabes et de la paralysie générale par injections arachnoïdiennes de sérum humain contenant des anticorps syphilitiques (Soc. Méd. des Hôp. de Paris, 23 janv. 1914).
- PIC, D. ET P. DUFOURT. — Cyanose congénitale tardive à forme fruste (Soc. Méd. des Hôp. de Lyon, 13 janv. 1914. *Lyon Méd.*, 1914, I. page 392).
- PIC ET D. — Pneumonie à pneumobacille de Friedlaender. Empyème. Vomique. Bactériothérapie. Guérison (*Lyon Méd.*, 1914, I, 775).
- D. — Maladie de Friedreich (Soc. Méd. des Hôp. de Lyon, 3 fév. 1914. *Lyon Méd.*, 15 fév. 1914).
- PIC ET D. — Accidents toxiques, anaphylactiques et sériques au cours de la résorption rapide d'un épanchement pleural tuberculeux (Soc. Méd. des Hôp. de Lyon, 24 mars 1914. *Lyon Méd.*, 5 avril 1914).
- PIC ET D. — Intoxication oxycarbonée aigüe. Injection sous-cutanée de 230 litres d'oxygène. Guérison Soc. Méd. des Hôp. de Lyon, 31 mars 1914. *Lyon Méd.*, 12 avril 1914).
- ROCHAIX ET D. — Action des toxines du pneumobacille de Friedlaender sur la plèvre par inoculation directe chez le lapin (C. R. de la Soc. de Biol., 18 juill. 1914, p. 380).
- ROCHAIX ET D. — Action des toxines du pneumobacille de Friedlaender sur le poumon par inoculation directe chez le lapin (C. R. de la Soc. de Biol., 25 juill. 1914, p. 380).
- ROCHAIX ET D. — Action des toxines du pneumobacille de Friedlaender sur le poumon par inoculation intratrachéale chez le lapin (C. R. de la Soc. de Biol., 25 juill. 1914, p. 423).
- ROCHAIX ET D. — Réactions pleurales au cours des lésions pulmonaires produites par les toxines du pneumobacille de Friedlaender sur le lapin (C. R. de la Soc. de Biol., 20 mai 1916, p. 407).
- ROCHAIX ET D. — Réactions pulmonaires au cours des lésions pleurales produites par l'inoculation

directe des toxines du pneumobacille de Friedlaender dans la plèvre chez le lapin (C. R. de la Soc. de Biol., 20 mai 1916).

ROCHAIX ET D. — La réaction d'Abderhalden au cours d'une paralysie consécutive au traitement antirabique (C. R. de la Soc. de Biol., 21 oct. 1916, p. 889).

ROCHAIX ET D. — Paralysie ascendante consécutive au traitement antirabique. (*Arch. de méd. exp. et d'anat. path.*, mars 1917, p. 387.)

J. COURMONT ET D. — Le rat d'égout, réservoir de virus pour la spirochétose ictéro-hémorragique. (Soc. Méd. des Hôp. de Paris, 26 janvier 1917, *Bull. Méd.* 3 fév. 1917.)

J. COURMONT ET D. — La spirochétose ictéro-hémorragique chez le chien. (C. R. de la Soc. de Biol., 17 mars 1917, p. 275.)

J. COURMONT ET D. — Pénétration transcutanée du spirochète de l'ictère hémorragique. (C. R. de la Soc. de Biol., 17 mars 1917, p. 277.)

P. COURMONT, D. ET P. DUFOURT. — Les microbes d'association dans la grippe. (C. R. de la Soc. de Biol., 9 nov. 1918, p. 950.)

PÉHU ET D. — Accidents immédiats graves du type anaphylactique observés au cours des réinjections de sérum antiméningococcique. (Soc. Méd. des Hôp. de Lyon, 6 mai 1919, *Lyon Méd.*, p. 303, juin 1919.)

PÉHU ET D. — Sur un cas de phénomène d'Arthus gangreneux après réinjection du sérum antidiphthérique. (Soc. Méd. des Hôp. de Lyon, 6 mai 1919, *Lyon Méd.* juin 1919, p. 303.)

PÉHU ET D. — Les réactions du « premier quart-d'heure » dans les réinjections sériques. (Soc. Méd. des Hôp. de Lyon, 3 juin 1919, *Lyon Méd.*, juill. 1919, p. 358.)

PÉHU ET D. — Etudes cliniques sur les réinjections sériques. (Soc. Méd. des Hôp. de Lyon, 10 juin 1919, *Lyon Méd.*, août 1919, p. 406.)

PÉHU ET D. — Sur l'emploi des fortes doses de sérum antidiphthérique. (*Lyon Méd.*, 1919, p. 592.)

- PÉHU ET D. — Recherches cliniques sur les phénomènes observés dans les réinjections sériques (*Ann. de Méd.* 1920, n° 3, p. 196.)
- PÉHU ET D. — Nosographie de la séro-anaphylaxie humaine. (*Ann. de Méd.* 1920, n° 4, p. 255.)
- PÉHU ET D. — Sur quelques accidents de la sérothérapie antiméningococcique (*Journ. de Méd. de Lyon*, 5 juin 1921, p. 979.)
- D. — Classification des bacilles diphtériques par l'agglutination. (C. R. de la Soc. de Biol., 16 nov. 1918, p. 1011.)
- D. — Agglutination des bacilles diphtériques. Préparation des sérums. Techniques de l'agglutination et de l'absorption des agglutinines (C. R. de la Soc. de Biol., 19 avril 1920, p. 611.)
- D. — Les types de bacilles diphtériques déterminés par les épreuves d'agglutination et d'absorption des agglutinines. (C. R. de la Soc. de Biol., 19 avril 1920, p. 613.)
- D. — Non-absorption de l'antitoxine diphtérique par la muqueuse rectale. (C. R. de la Soc. de Biol., 15 mars 1920, p. 403.)
- D. — Valeur thérapeutique du sérum antidiphtérique, antitoxique et antimicrobien (sérum mixte). (*Journ. de Méd. de Lyon*, 20 sept. 1920, p. 509).
- D. — Action des bacilles diphtériques sur les hydrates de carbone. (C. R. de la Soc. de Biol., 23 mai 1921, p. 982.)
- D. et J. GUÉRIN. — Types de bacilles diphtériques et Épidémiologie. (C. R. de la Soc. de Biol., 23 mai 1921, p. 980.)
- D. ET PORTE. — Choc anaphylactique anormal au cours d'une sérothérapie antigonococcique. Soc. Méd. des Hôp. de Lyon, 14 juin 1921, *Lyon Méd.*, (A paraître).
- GENET ET D. — Lésion à staphylocoques de la conjonctivite oculaire. Soc. d'Ophthalmologie de Lyon, juin 1921, *Lyon Méd.* (A paraître.)
- BOUCHUT ET D. — Sur la pathogénie des paralysies diphtériques (A paraître).

DEVIC ET D. — Dysenterie bacillaire chronique. Autovaccination. Guérison. (A paraître.)

D. ET P. DUFOURT. — Action du bacille de Pfeiffer sur les hydrates de carbone. (A paraître.)

CONTRIBUTION AUX OUVRAGES SUIVANTS

J. MERNÈS. — Essais de tonométrie oculaire. Thèse de Lyon, 1912.

A. BESSIÈRE. — Essais d'hémoculture. Thèse de Lyon, 1912.

F.-G. GÉRAUD. — De la protrusion oculaire et de sa mensuration. Quelques acquisitions nouvelles. Thèse de Lyon, 1912.

DUJOL. — Diagnostic bactériologique et clinique de la gonococcie perpuérale. Thèse de Lyon, 1912-13,

ARÈNE. — Accidents toxiques liés à la résorption des sérosités pathologiques. Accidents anaphylactiques et éruptions sériques d'origine pleuro-tuberculeuse. Thèse de Lyon, 1914.

CROZAT. — Erythème noueux et tuberculose. Thèse de Lyon, 1914.

B. CROS. — La fièvre paratyphoïde A. Etudes cliniques, anatomique et diagnostique. Thèse de Lyon, 1916.

H. BARDON. — Paralysies consécutives au traitement antirabique. Thèse de Lyon, 1916.

RUE. — La diphtérie aux armées en 1915-1916. Thèse de Lyon, 1916.

GARNIER. — Le Sodoku. Thèse de Lyon, 1917.

BOUVAT. — Hémolyse par le venin de cobra et aliénation mentale. Thèse de Lyon, 1919.

RAYMOND. — De la non-perméabilité de la muqueuse rectale à l'antitoxine diphtérique. Thèse de Lyon, 1919.

POTY. — De la présence du bacille de Loeffler dans les organes des diphtériques. Thèse de Lyon, 1920.

LES TYPES DE BACILLES DIPHTÉRIQUES

VALEUR THÉRAPEUTIQUE DU SÉRUM
ANTIDIPHTÉRIQUE ANTIMICROBIEN



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1920-1921. — N° 269

Travail du Laboratoire d'Hygiène de la Faculté de Médecine
et du Service des sérums de l'Institut Bactériologique de Lyon.

LES TYPES DE BACILLES DIPHTÉRIQUES

Valeur Thérapeutique
Du Sérum Antidiphtérique Antimicrobien

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 11 Juillet 1921

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Paul DURAND

Né le 17 mars 1886, à Saint-Siméon-de-Bressieux (Isère)

Licencié ès-sciences

Ancien interne des Hôpitaux de Lyon

Préparateur d'Hygiène à la Faculté de Médecine de Lyon

Chef du service des sérums à l'Institut bactériologique de Lyon.



TRÉVOUX

IMPRIMERIE JULES JEANNIN

1921

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Doyen honoraire.....	M. HUGOUNENQ.
Doyen.....	MM. J. LEPINE.
Assesseur.....	ROQUE.

Professeurs honoraires

MM. AUGAGNEUR, SOULIER, CAZENEUVE,
BEAUVISAGE, LACASSAGNE, TESTUT.

Professeurs

Cliniques médicales.....	}	MM. TEISSIER.
Cliniques chirurgicales		ROQUE.
Clinique obstétricale et accouchements.....		BARD.
Clinique ophtalmologique.....		TIXIER.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....		BERARD.
Clinique neurologique et psychiatrique.....		X...
Clinique des maladies des enfants.....		ROLLET.
Clinique des maladies des femmes.....		NICOLAS.
Clinique d'oto-rhino-laryngologie.....		LEPINE (J.).
Clinique des maladies des voies urinaires.....		WEILL.
Clinique chirurgicale des maladies des enfants.....		POLLOSSON (A.)
Physique biologique, radiologie et physiothérapie.....		LANNOIS.
Chimie biologique.....		ROCHET.
Chimie organique et toxicologie.....		NOVE-JOSSERAND.
Matière médicale et botanique.....		CLUZET.
Parasitologie et Histoire naturelle médicale.....		HUGOUNENQ.
Anatomie.....		MOREL.
Anatomie générale et histologie.....		MOREAU.
Physiologie.....		GUIART.
Pathologie interne.....		LATARJET.
Pathologie et thérapeutique générales.....		POLICARD.
Anatomie pathologique.....		DOYON.
Médecine opératoire.....		COLLET.
Médecine expérimentale et comparée.....		MOURIQUAND.
Médecine légale.....		PAVIOT.
Hygiène.....		VILLARD.
Thérapeutique.....		ARLOING (F.).
Pharmacologie.....		ETIENNE MARTIN.
		COURMONT (P.).
		PIC.
		FLORENCE.

Professeurs titulaires sans chaire

Chargé d'un cours de	Pathologie externe.....	VALLAS.
—	Propédeutique de gynécologie.....	CONDAMIN.
—	Chimie minérale.....	BARRAL.
—	Accouchements.....	COMMANDEUR.
—	Urologie.....	GAYET.

Chargés de cours complémentaires

Embryologie.....	HOVELACQUE.
Anatomie topographique.....	PATEL.
Botanique.....	BRETIN.
Stomatologie.....	TELLIER.

Agrégés

MM.	MM.	MM.	MM.
NOGIER.	GARIN.	DUROUX.	CORDIER.
BRETIN.	SAVY.	HOVELACQUE.	ROUBIER.
LERICHE.	FROMENT.	TRILLAT.	FAVRE.
THEVENOT (Léon).	THEVENOT (Lucien)	SARVONAT.	MURARD.
TAVERNIER.	PIERY.	FLORENCE (G.)	BONNET.
CADE.	COTTE.	ROCHAIX.	GRAVIER, chargé des fonctions.

M. BAYLE, secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. PAUL COURMONT, *Président*; NICOLAS, *Assesseur*;
MM. ARLOING, *agré*; FLORENCE G., *agré*.

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MON FRÈRE ALEXANDRE

A MES PARENTS

*Je crois les mots inutiles quand on
se comprend par le cœur.*

A MON FRÈRE HENRY

A LA MÉMOIRE DE MON MAITRE

JULES COURMONT

*Ce travail est dédié en profond
hommage d'admiration, d'affection et
de reconnaissance.*

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

LE PROFESSEUR PAUL COURMONT

Depuis bientôt dix ans, d'abord à l'Hôpital, puis à la Faculté et à l'Institut, nous avons pu apprécier sa bienveillance constante, son amabilité, son dévouement à notre égard. Nous l'en remercions profondément et souhaitons pouvoir travailler encore de longues années sous sa haute direction.

A MES JUGES

LE PROFESSEUR JOSEPH NICOLAS

En souvenir d'un semestre trop écourté d'internal, en reconnaissance de l'intérêt qu'il veut bien nous porter depuis longtemps et en remerciement de l'honneur qu'il nous fait d'argumenter ce travail, simple contribution à un édifice dont il a posé la première pierre.

LE PROFESSEUR FERNAND ARLOING

A qui nous devons l'initiation aux mystères de la production et du titrage des antitoxines.

LE PROFESSEUR AGRÉGÉ GABRIEL FLORENCE

Notre ami.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR G. ROQUE

A qui nous exprimons toute notre gratitude pour un accueil plein d'amabilité et dont nous serons heureux de pouvoir nous dire l'élève.

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

Suppléance d'externat :

MM. COLLET, BÉRARD.

Externat :

MM. LANNOIS, COMMANDEUR,
TEISSIER, MOUISSET.

Internat :

MM. ROLLET, LESIEUR (in memoriam),
P. COURMONT, BÉRIEL,
PIC, DEVIC,
PEHU, MOURIQUAND,
WEILL, NICOLAS,
BOUCHUT.

Tous ont droit à notre reconnaissance pour leur bienveillance à notre égard. Nous remercions tout particulièrement ceux d'entre eux qui nous ont entouré de soins dévoués en des circonstances pénibles.

INTRODUCTION

Lorsqu'en moins de huit ans les travaux de Loeffler, Roux, Yersin, Behring et Kitasato, eurent amené la découverte du bacille diphtérique, élucidé le rôle de la toxine soluble dans la pathogénie de la diphtérie, permis l'immunisation du cheval et établi de façon indiscutable le pouvoir thérapeutique du sérum antitoxique, on put croire achevée l'étude du bacille et de la sérothérapie diphtériques ; et à juste titre, en effet, puisque depuis le Congrès de Budapest, tous les travaux parus sur ces questions ont à peine touché sur des détails l'œuvre de ces grands bactériologistes.

Peut-être même la solidité reconnue et l'aspect imposant de cette œuvre ont-ils détourné quelque temps les expérimentateurs de certains côtés secondaires de l'étude du bacille diphtérique.

Pendant des années, on semble hésiter à rechercher ou à admettre l'existence d'autres substances toxiques dans ce bacille que la toxine de Roux et

Yersin, à se demander si le sérum de Roux n'avait pas d'autres propriétés que celle de neutraliser la toxine soluble et s'il n'était pas possible, par certains artifices de préparation, d'y développer ces propriétés adventices afin de les utiliser, soit au laboratoire, à résoudre des questions controversées telles que celle des rapports des bacilles dits vrais ou pseudo-diphtériques, soit en clinique, pour se rendre compte si de tels sérums n'avaient pas une valeur thérapeutique particulière.

Nous exposerons plus loin tous ces travaux ; mais dès maintenant nous ne pouvons omettre les noms de Nicolas, qui le premier constata les propriétés antimicrobiennes du sérum antidiphtérique et de Louis Martin qui précisa les conditions où elles prennent naissance et reconnut leur action sur les lésions locales chez le malade.

Depuis plusieurs années, nous nous sommes adonné à l'étude de l'agglutination du bacille diphtérique.

Favorisé, sans doute, par les circonstances qui nous avaient placé dans un milieu où arrivaient des malades-contaminés en des lieux très divers et souvent fort éloignés les uns des autres, nous avons pu reconnaître ainsi plusieurs types de bacilles diphtériques.

Il est actuellement à la mode, semble-t-il, de subdiviser à l'infini les espèces microbiennes. Après les typhiques et les paratyphiques, les divers dysentériques de Shiga, Flexner, Hiss, Strong, Sonne ; les méningocoques et paraméningocoques de Dopter ou

les méningocoques A, B, C, D, de Nicolle ; les pneumocoques I, II, III, IV, et les streptocoques multiples des bactériologistes de l'Institut Rockefeller ; après même les bacilles tétaniques I. II. III. IV. de Tulloch, voici une autre espèce réduite en morceaux.

En dehors de l'intérêt spéculatif du fait, il y a cependant une excuse valable à couper ainsi un microbe en quatre, fût-ce même en cinq ou six et elle réside en ceci, que lorsqu'on veut traiter une infection causée par un de ces microbes par un sérum antibactérien, sans s'astreindre à déterminer le type en cause chez chaque malade, le sérum doit être polyvalent.

Nous avons vérifié cette nécessité au cours d'une épidémie de diphtérie très grave qui sévissait dans la région lyonnaise et que nous avons suivie pendant près de deux ans, en expérimentant la valeur thérapeutique, chez l'homme, d'un sérum antidiphtérique à la fois antitoxique et antimicrobien, comparée à celle d'un sérum purement antitoxique.

Cette étude, dont nous exposerons les résultats, nous a montré la supériorité du sérum mixte, surtout en ce qui concerne les accidents très spéciaux de la diphtérie, que constituent les paralysies.

Mais avant d'aller plus loin, qu'il nous soit permis sinon de payer, au moins de déclarer nos dettes de reconnaissance.

Et tout d'abord à la mémoire de Jules Courmont, de qui nous garderons toujours le souvenir du meilleur Maître qui fût, du « Patron » dans tout le

noble sens littéral que devrait toujours garder ce mot.

Comme dans une famille dont il eût été le chef, il faisait naître tout naturellement autour de lui la confiance, l'affection, le dévouement ; si bien qu'à le voir de trop près, on pouvait parfois l'aimer avant de l'admirer. Depuis qu'il n'est plus, l'admiration n'a fait que croître chaque jour.

Nous lui devons entre autres choses de nous avoir ouvert les portes du laboratoire d'hygiène de la Faculté de Médecine et de nous avoir confié le service des sérums de l'Institut bactériologique de Lyon. De cela, et plus encore de son affectueuse bienveillance à notre égard, nous garderons le souvenir le plus profond.

Au cours du dernier entretien que nous avons eu avec lui, quelques heures avant qu'il ne disparût, nous avons pu lui exposer les idées directrices de ce travail ; nous sommes heureux de le dédier à sa mémoire.

Notre Maître, le Professeur Paul Courmont, nous a permis de poursuivre, tant au Laboratoire d'Hygiène de la Faculté de Médecine, qu'à l'Institut Bactériologique de Lyon, nos recherches de laboratoire et l'immunisation de nos animaux producteurs de sérum ; non content de s'intéresser à nos travaux, il nous a donné à de nombreuses reprises les marques de la plus grande bienveillance, et nous sommes heureux de lui témoigner ici notre reconnaissance et notre attachement.

Messieurs les Docteurs Levrat, Péhu, médecin

des Hôpitaux, le professeur Mouriquand, ont bien voulu nous autoriser à employer les différents sérums au traitement des malades du Service des Diphtériques de la Charité de Lyon, soit pendant que nous avions l'honneur d'être leur interne, soit après que nous eûmes quitté ce service. Nous leur en adressons l'expression de toute notre gratitude.

Enfin, nous sommes heureux de remercier ici M. Douglas Flattery, à la libéralité duquel nous avons dû de pouvoir continuer plus facilement notre travail.

CHAPITRE PREMIER

Historique

On peut grouper les recherches qui nous intéressent sous trois rubriques, d'ailleurs un peu artificiellement, car un tel classement n'est pas rigoureux et il y a bien des points de passage d'un compartiment à l'autre. Nous insisterons tout particulièrement sur les points de technique qui nous ont offert quelques difficultés.

I. Propriétés antimicrobiennes des sérums antidiphthériques

AGGLUTININES. — *Nicolas*, le premier (1895), remarqua qu'un sérum antidiphthérique ordinaire était capable, quand on l'utilisait comme milieu de culture, d'affaiblir graduellement la virulence et

même de faire disparaître la végétabilité d'un bacille cultivé en générations successives sur ce sérum.

Plus tard, cultivant pendant 18 à 24 heures des bacilles diphtériques sur du sérum antidiphtérique dilué dans du bouillon, il constate une agglutination ; cette agglutination peut encore se produire à 1/10 ou 1/20 en faisant agir des dilutions de sérum antidiphtérique sur des cultures de 24 heures, homogènes, de bacilles de Loëffler. Les bacilles agglutinés ont leur virulence atténuée. Rien de pareil ne se produit avec du sérum de cheval normal. Certains bacilles diphtériques authentiques ne sont pas agglutinables ; ils peuvent rester tels ; ou au contraire acquérir l'agglutinabilité par un entretien plus ou moins prolongé au laboratoire.

L'agglutinabilité dépend des échantillons microbiens et ne varie pas avec les différents sérums employés.

Il est assez curieux de constater que les résultats positifs de Nicolas ont été obtenus avec des sérums préparés par injection de toxines, alors que *Nicolle*, *Landsteiner*, avec des sérums obtenus par injections de cultures tuées, n'ont pu obtenir d'agglutination.

Par contre, *Martini* et *Spronek* confirment les expériences de Nicolas.

Bruno (1898), admet que certains sérums humains normaux peuvent agglutiner jusqu'à 1/30, tandis que celui de diphtériques, avant toute injection de sérum et dès les premiers jours de la maladie, agglutine entre 1/10 et 1/40. L'agglutination ne peut

d'ailleurs servir au diagnostic d'après cet auteur, car le sérum d'un malade peut agir sur certaines souches et non sur d'autres. Il en est de même des sérums thérapeutiques. Enfin, il essaye de séparer les bacilles diphtériques des pseudo-diphtériques par les différences d'aspect que présentent leurs cultures sur sérum antidiphtérique.

Lubowski (1900) injecte à un bouc, tous les cinq jours, des doses croissantes de cultures vivantes d'un bacille diphtérique à virulence très faible et sans toxicité. Au bout de deux mois, l'animal ayant reçu au total 750 cc. de culture, est saigné. L'auteur soumet à l'agglutination par ce sérum 23 souches de diphtériques. Pour éviter le dépôt spontané des microbes, il essaie d'obtenir une émulsion fine et stable en broyant les bacilles, cultivés sur lieux solides, par agitation avec des perles de verre et en les diluant dans de l'eau salée additionnée de glycérine à 1/10 °/°.

La lecture de l'agglutination se fait après 1 heure 1/2 à 3 heures 1/2 d'étuve. Au bout de ce temps, toutes les souches sont agglutinées à 1/40 ou 1/80, rarement à 1/160. Un sérum normal agit parfois à 1/40, un sérum antitoxique à 400 unités agglutine également à 1/40. Trois bacilles pseudo-diphtériques restent en suspension homogène.

Lesieur (1902) emploie comme sérum, soit celui de cheval immunisé par injections de toxine, soit celui d'une chèvre immunisée par injections sous-cutanées de cultures complètes. Les bacilles sont cultivés en bouillon peptoné pendant 8 jours à 37°, et rendus homogènes en les agitant trois fois par jour. L'agglu-

tion, quand elle se produit, n'est nette qu'après 12 ou mieux 24 heures de séjour à l'étuve du mélange de culture microbienne et de sérum dilué. Sur 40 échantillons de bacilles diphtériques vrais, onze se sont montrés agglutinables par l'un des deux sérums au taux de 1/10 à 1/20 (une seule fois à 1/100). Sur 30 échantillons de pseudo-diphtériques, 9 ont été agglutinés dans les mêmes conditions au taux de 1/10 à 1/20 (une fois à 1/5 seulement). Certaines souches, inagglutinables par un sérum antitoxique de cheval, l'étaient par le sérum de chèvre.

Lipstein (1902) obtient chez le lapin des sérums fortement agglutinants en pratiquant plusieurs injections intrapéritonéales de grosses quantités de cultures tuées, puis de cultures vivantes, en même temps qu'il administre à l'animal de grosses doses d'antitoxine.

Les cultures destinées à l'agglutination sont formolées et employées après sédimentation spontanée.

Avant toute immunisation, le sérum des animaux était sans action à 1/20. Après immunisation, il agglutinait les souches essayées, parfois jusqu'à 1/1280, mais toujours à un taux plus élevé que les autres la souche qui avait servi à l'immunisation.

Schwoner (1902) immunise un cheval en lui injectant des cultures mortes, puis des cultures vivantes de 2, 3 et enfin 7 souches de bacilles diphtériques typiques. Il prépare ses émulsions microbiennes en broyant finement dans du bouillon les bacilles cultivés 48 heures sur agar. Après une sédimentation de 2 heures, le liquide qui surnage est mélangé à des

dilutions de sérum et porté à l'étuve. La réaction commence vers la 4^e heure et est complète entre 7 et 22 heures.

50 souches de bacilles diphtériques ont toutes été agglutinées par le sérum de Schwoner ; très disciplinées, elles s'agglutinaient le même jour toutes au même taux, qui atteignit 1/10.000.

Aucun bacille pseudo-diphtérique ne fut agglutiné à plus de 1/10.

Inversement, un sérum de bouc traité par des injections d'un bacille pseudo-diphtérique n'agglutine aucun bacille diphtérique, ni même aucun pseudo-diphtérique autre que celui qui avait servi à l'immunisation.

Les résultats de Schwoner, confirmés par *Schick* et *Ersettig* (1903) qui opérèrent avec le sérum de Schwoner, établiraient donc la possibilité de la différenciation biologique des bacilles diphtériques vrais et des pseudo-diphtériques.

Louis Martin (1903) recherche dans quelles conditions apparaît le pouvoir agglutinant, inconstant dans les divers sérums thérapeutiques. Il constate que l'injection de bacilles tués le fait toujours apparaître, faible quand on utilise la voie sous-cutanée ; plus fort quand on fait des injections intra-péritonéales ; bien plus élevé, enfin, quand les bacilles sont introduits dans les veines. Mais, les trois procédés offrent leurs inconvénients respectifs. Abscès dans le premier cas, difficulté de répéter les injections péritonéales, réactions violentes pouvant amener la mort des chevaux au cours du dernier mode de traitement.

L'agglutination, sur des cultures rendues homogènes par chauffage d'une heure à 100°, peut dépasser le taux de 1/200.

Louis Martin reprend la question en 1910 avec la collaboration de *Prévot* et *Loiseau*. La technique modifiée est la suivante : Culture de bacilles 24 heures sur gélose, broyage au mortier de la masse bacillaire et émulsion dans l'eau salée, addition de sérum dilué, et enfin lecture de l'agglutination après 15 à 18 heures de séjour à 37°. On constate ainsi que le sérum de chevaux immunisés à l'aide de toxines diphtériques vieilles peut agglutiner jusqu'à 1/600, de même que celui de chevaux injectés dans le péritoine avec des bacilles diphtériques vivants. Au contraire, le sérum de chevaux traités par des toxines jeunes peut ne pas agglutiner et ne dépasse, en tous cas, jamais le taux de 1/100.

De plus, les titrages par la méthode d'Erlich montrent qu'il n'y a pas de parallélisme entre le pouvoir antitoxique et le pouvoir agglutinant et que l'on peut préparer des sérums très antitoxiques qui ne sont pas agglutinants.

Les recherches de *Louis Martin* et de ses élèves ont eu le grand mérite de préciser les conditions d'apparition du pouvoir agglutinant des sérums, lié à l'injection de bacilles ou de substances diffusées du bacille dans les vieilles cultures, et de poser, comme nous le verrons plus loin, le problème de la valeur thérapeutique comparée des unités antitoxiques et des autres propriétés du sérum.

Przewoski agglutine deux bacilles diphtériques et

à un taux peu élevé un bacille pseudo-diphtérique avec un sérum anti-microbien. Par contre, un sérum anti-pseudo-diphtérique n'agglutine que la souche homologue et non les deux diphtériques.

Van Riemsdyk insiste sur la difficulté de préparer une émulsion stable, avec les méthodes antérieurement proposées pour cet objet. Elle obtient une suspension homogène en chauffant les émulsions bacillaires 2 heures $1/2$ au bain-marie à 50° . Elle constate qu'un sérum de lapin immunisé avec une seule souche est strictement monovalent. Pour agir sur ses douze échantillons avec le même sérum, elle doit employer, pour l'immunisation de l'animal, au moins quatre souches différentes. L'agglutination ne lui donne d'ailleurs des résultats appréciables qu'après 24 heures, c'est-à-dire à un moment où la sédimentation spontanée est très intense et gêne considérablement la lecture.

Spiegelberg essaie encore de faire le diagnostic, par l'agglutination, des bacilles diphtériques et des pseudo-diphtériques. Il travaille avec quatre souches de diphtériques d'origine humaine et huit souches provenant de pigeons sains ou malades. Ses sérums proviennent de lapins injectés dans le péritoine avec un seul microbe. Les résultats sont variables, l'agglutination étant tantôt forte, tantôt du degré de celle que produit un sérum normal de lapin.

La souche qui a servi à l'immunisation d'un animal peut être agglutinée par le sérum correspondant à un taux moins élevé que ne l'est une autre souche.

L'auteur conclut qu'une distinction radicale n'est

pas possible par l'agglutination entre diphtériques vrais et faux.

Langer fait, en 1916, une étude très consciencieuse de la question. Son matériel microbien se compose de 24 diphtériques typiques par leur morphologie, leur virulence, capables de pousser en anaérobies et de faire virer le milieu glucosé de Thiele, possédant, enfin, des granulations de Neisser, d'un bacille diphtérique atypique n'ayant pas de granulations et d'un autre sans granulations ni virulence, enfin de 9 pseudo-diphtériques. Ces bacilles donnent facilement des émulsions stables, à condition d'être cultivés pendant 18 à 24 heures sur plaques de sérum coagulé très lentement, de 70° à 90° en 12 heures et dans une atmosphère saturée de vapeur d'eau, ou bien encore sur de l'agar surmonté d'une couche de sérum.

Langer note que les émulsions phéniquées peuvent se conserver plus de quinze jours sans perdre leurs propriétés d'homogénéité et d'agglutinabilité.

Il immunise des lapins par trois injections intra-veineuses, à huit jours ou plus de distance, d'un mélange de sérum antitoxique et de bacille, celui-ci à la dose, d'abord, de 2 öses, puis de 1/10 de culture sur plaque.

L'agglutination se fait dans des blocs de verre creusés, commence au bout de 2 à 3 heures, est complète en 5 à 6 heures.

Dans ces conditions, le sérum de lapin normal peut agglutiner à 1/20, parfois à 1/40.

Les sérums de quatre lapins préparés avec la sou-

che 22 agglutinent entre 1/640 et 1/1280 15 souches dont l'homologue, à 1/40 ou pas du tout les 9 autres souches diphtériques, n'agglutinent pas les pseudo-diphtériques. Mêmes résultats avec le sérum d'un lapin immunisé avec une autre des 15 souches agglutinées.

Deux lapins sont alors injectés, chacun avec une des 9 souches inagglutinées. Aucun des deux sérums n'agglutine une de ces 9 souches, mais tous les deux agglutinent à un taux élevé les 15 bacilles du premier groupe.

Ainsi, la fonction agglutinogène se montre le témoin fidèle de l'identité d'un bacille diphtérique.

L'auteur remarque d'ailleurs que l'agglutinabilité peut ou non se montrer dès l'isolement de la souche, qu'elle peut se perdre par culture prolongée sur agar, ou être ramenée par repiquages journaliers sur sérum. Les cultures inagglutinables auraient, de préférence, les caractères suivants : bacilles longs, assez droits, poussant en bouillon en trouble diffus et provenant de cas cliniques légers ou de porteurs sains.

Mais Langer ne se contente pas de trouver dans la fonction agglutinogène un des caractères majeurs de ses bacilles diphtériques. Il constate une autre propriété aussi importante et plus facile à déceler dans le pouvoir de fixer les agglutinines. N'importe lequel de ses sérums, dilué à 1/20 ou 1/40, additionné d'une émulsion épaisse d'un quelconque de ses bacilles diphtériques, placé douze heures à l'étuve, puis centrifugé, ne peut plus agglutiner aucun des 15 bacilles du premier groupe.

La fixation des agglutinines, caractère absolument spécifique des bacilles diphtériques, peut servir à les séparer des bacilles pseudo-diphtériques qui ne fixent rien ; elle peut même s'employer avec des cultures impures.

Les travaux de Langer, dont nous n'avons eu connaissance qu'après avoir publié nos premières recherches, nous paraissent tout à fait exacts, mais l'auteur a dû prendre ses souches, assez nombreuses, au cours d'une épidémie localisée ne comportant qu'un seul type de bacille diphtérique.

Cette notion des types, que nous avons énoncée dès novembre 1918 et étendue plus tard, est confirmée en partie par *Havens* (1920), qui obtient par l'agglutination deux groupes de bacilles diphtériques, dont l'un, comprenant 82 % des 206 souches examinées, a pour tête de liste le bacille Park-Williams n° 8. Havens note une différence dans les toxines produites par les deux groupes, l'antitoxine obtenue par injection de toxine du groupe I neutralisant beaucoup moins la toxine du groupe II que la première.

Il est juste de dire ici que le *D^r Park*, à qui nous avons eu l'occasion d'exposer nos travaux et de remettre un échantillon de nos types en janvier 1920, a bien voulu nous écrire qu'il avait rencontré et identifié en Amérique la plupart de nos types.

SENSIBILISATRICES. — *Lambotte* (1901), par la méthode de Bordet-Gengou, ne constate pas de sensibilisatrice pour le bacille diphtérique dans les sérums thérapeutiques ordinaires. En préparant un sérum antimicrobien par injections péritonéales de bacilles

diphtériques ou pseudo au cobaye, il obtient une fixation de complément par les bacilles diphtériques en présence de sérum correspondant, par les pseudo en présence de sérum correspondant, et une fixation plus ou moins complète, parfois intense, dans les réactions croisées.

L. Martin (1903) constate avec *Besredka* la présence d'une sensibilisatrice dans les sérums agglutinants, son absence dans les sérums non agglutinants.

Weill-Hallé et *Bloch Michel* (1910) font de la méthode de déviation du complément par le mucus recueilli sur la gorge du malade, en présence de sérum antidiphtérique thérapeutique, un procédé plus sûr pour le diagnostic précoce de la diphtérie que l'examen microscopique.

Prietsley (1911) essaye de différencier par cette méthode diphtérique et pseudo. Il n'obtient pas de résultats, à cause, dit-il, de l'absence d'un bon antigène, quoiqu'il eût essayé plusieurs de ceux-ci.

Kolmer (1912) conclut, de réactions effectuées comparativement avec des bacilles diphtériques et pseudo-diphtériques, que la fixation du complément en présence de sérums antimicrobiens préparés avec les uns ou les autres, ne révèle pas de différence bien nette entre ces différents microbes et que, d'autre part, il n'y a aucun rapport entre le degré de la fixation et la force antitoxique du sérum.

M.-E. Morse (1912) ne trouve au contraire aucune fixation réciproque entre bacilles diphtériques et quatre espèces diphtéroïdes ; par contre, elle trouve des fixations croisées entre les quatre diphtéroïdes.

Schmitz (1915) trouve des différences considérables entre la fixation en présence d'un même sérum par divers bacilles diphtériques vrais. Pour un même bacille, la réaction peut même varier d'un moment à l'autre.

Elle est nulle avec les pseudo-diphtériques.

PRÉCIPITINES. — Le sérum antitoxique ordinaire ne contient de précipitines ni pour une toxine soluble non concentrée (1), ni pour un autre antigène diphtérique. *Wasserman*, après de nombreux essais, arrive à préparer un sérum précipitant pour un antigène diphtérique.

Il prépare un antigène par dessiccation de bacilles, broyage au mortier d'agate et extraction de la masse par l'éthylène-diamine à 0,1 %. Cet antigène, toxique pour le lapin, est inoculé à l'animal mélangé à du sérum antitoxique. Après une longue immunisation, le sérum obtenu précipite l'antigène.

Wasserman prévoit la possibilité de différencier ainsi les bacilles diphtériques des pseudo, et pense qu'un sérum précipitant pourrait peut-être faire disparaître plus rapidement les bacilles de la gorge des convalescents.

(1) On sait que *Nicolle*, *Debains* et *Césari* ont montré que l'antitoxine diphtérique peut donner un précipité quand on la met en présence d'une solution en eau salée gélatinée d'une toxine préalablement précipitée par le sulfate de soude.

II. L'Endotoxine diphtérique

Brieger et *Baer*, dès 1896, constatent qu'après avoir éliminé toute trace de la toxine soluble adhérente à des bacilles diphtériques, en les lavant à plusieurs reprises avec une solution de chlorydrate d'ammoniaque, ils sont encore toxiques pour l'animal, même après avoir été chauffés, même après avoir été additionnés de sérum antitoxique. L'action en est surtout nécosante.

Mya (1899) émet l'hypothèse qu'après la phase aiguë de la diphtérie, il reste dans l'organisme des « résidus toxiniques » à qui seraient dues les paralysies tardives.

L'antigène de Wasserman, précipitable par son sérum, n'est qu'une sorte d'endotoxine.

Bandi, *Bandi* et *Gagnoni* (1902-1905), obtiennent de l'endotoxine par autolyse de bacilles diphtériques dans une solution de NaCl, endotoxine neutralisée par un sérum bivalent, non par un sérum purement antitoxique.

Rist (1903) voit que l'injection péritonéale de bacilles diphtériques tués dans le péritoine du cobaye amène des accidents tardifs : cachexie, paralysie ou mort, bien distincts de ceux que provoque la toxine soluble. L'antitoxine qui empêche les derniers est sans action sur les premiers.

Il émet, comme *Mya*, l'hypothèse que l'endotoxine est cause des accidents paralytiques, et cela d'autant mieux que les recherches de *Barbier*, *Richardière* et

Tollemmer, Zacchiri, ont montré aux autopsies la fréquence du bacille dans les centres nerveux des malades morts de diphtérie.

Auclair (1903) montre les lésions que peut déterminer l'éthérodiphtérine.

Cruveilhier (1909-1911) constate la toxicité d'une endotoxine obtenue d'après la méthode de Besredka, surtout lorsqu'on l'injecte dans le cerveau. Non neutralisée par le sérum antitoxique, elle l'est par un sérum de chèvre injecté avec des bacilles diphtériques.

Nicolle et Loiseau (1911) admettent que « parmi les facteurs de toxicité du bacille diphtérique, l'un constant est représenté par la substance fondamentale (poisons constitutifs), l'autre inconstant par la toxine soluble ».

Aviragnet, Bloch et Dorlencourt (1911) confirment les expériences de Rist et voient survenir à la suite d'injections de bacilles tués, ou dont la toxine soluble a été neutralisée, des lésions locales et des dégénérescences parenchymateuses.

Enfin, *P.-J. Ménard* (1913) isole dans le bacille diphtérique des substances toxiques de deux ordres. Les unes, lipoides, déterminent des lésions locales de nécrose plus ou moins intenses. Les autres, protéiques, ont une affinité spéciale pour les centres nerveux et déterminent, même à très faible dose, des convulsions et des paralysies lorsqu'on les introduit dans la circulation. Le sérum antitoxique ne neutralise aucune de ces substances.

III. Essais de Thérapeutique par les Sérums antimicrobiens

Dès 1897, *van de Velde* avait distingué dans les sérums antidiphtériques une action antitoxique et une action antiinfectieuse, n'évoluant pas parallèlement, capables d'être développées de préférence, la première par des injections à l'animal producteur de sérum de toxine soluble forte, la seconde par injection de culture totale ou de bacilles lavés.

Wassermann avait proposé l'utilisation thérapeutique d'un sérum antimicrobien, mais ne semble pas l'avoir mise en pratique.

Bandi (1903) prépare d'abord un chien par injections péritonéales de bacilles tués. Puis, avec le sérum de ce chien, il sensibilise des bacilles diphtériques vivants qu'il injecte sous la peau d'une chèvre. Il obtient ainsi un sérum agglutinant à 1/30, présentant des sensibilisatrices abondantes et possédant 15 unités d'Ehrlich par centimètre cube. Ce sérum, à dose très faible (3 à 6 centimètres cubes par injection, répétée 2 ou 3 fois), amène dans 7 cas humains très graves, l'expulsion rapide des fausses membranes. *Bandi* en préconise, par conséquent, l'emploi dans les diphtéries trachéo-bronchiques.

L. Martin (1903) utilise son sérum antimicrobien pour le traitement local des fausses membranes ; il note que la douleur disparaît très rapidement, que les fausses membranes se gonflent et tombent en un temps très court, et que le nombre des bacilles diphtériques diminue rapidement.

Le sérum est employé en attouchements ou bien desséché, incorporé à de la gomme et transformé en pastilles que sucent les malades. Naturellement, des injections d'antitoxine sont faites à tous les malades.

Dopter (1905), utilisant les pastilles de *Martin*, constate la disparition en quelques jours des bacilles de la gorge des malades et en un temps un peu plus long, la disparition des bacilles des fosses nasales, en faisant priser de la poudre de sérum sec.

Cette sérothérapie locale, modérément employée avant la dernière guerre, fut largement répandue, avec quelques modifications, dans les hôpitaux militaires de contagieux et de là dans les hôpitaux civils. Le sérum antimicrobien desséché, mélangé à des poudres inertes et adhésives, et employé en insufflations nasales et pharyngées, réduisit considérablement la durée de l'isolement et de l'indisponibilité soit des convalescents, soit des porteurs sains de germes.

Martin, *Prévot* et *Loiseau* (1910), devant le manque de parallélisme des pouvoirs agglutinant et antitoxique des sérums antidiphtériques, se demandent quel est le meilleur sérum thérapeutique. Ils rappellent qu'au moment du Congrès de Budapest, l'action du sérum de Roux était manifeste, vingt à trente centimètres cubes suffisant pour faire rapidement tomber les fausses membranes et guérir une diphtérie moyenne ; à ce moment, les chevaux ne recevaient que de vieilles toxines, et l'on vit plus tard qu'ils ne titraient guère que 150 unités antitoxiques d'Ehrlich. On injecta alors des toxines jeunes, très actives ;

le nombre d'unités du sérum monta considérablement, mais les fausses membranes tombèrent moins vite, si bien que L. Martin injecta à la fois des toxines jeunes et des toxines vieilles pour obtenir de meilleurs résultats thérapeutiques.

Les sérums antitoxiques et agglutinants ainsi obtenus amenèrent une disparition des fausses membranes plus rapide que celle obtenue par les sérums purement antitoxiques. A signaler seulement que les sérums très agglutinants parurent provoquer des accieents sériques plus marqués que les sérums strictement antitoxiques.

Tels sont les travaux de nos devanciers.

On peut en tirer un certain nombre de conclusions :

Les sérums antimicrobiens s'obtiennent par injection de bacilles ou d'autolysat bacillaire.

Ces sérums peuvent agglutiner, mais non toujours, les bacilles diphtériques à un taux élevé, jamais les pseudo-diphtériques à un taux approchant.

Les sensibilisatrices accompagnent les agglutinines, mais sont moins spécifiques que ces dernières.

Il y a dans le bacille diphtérique, en dehors de la toxine soluble, des substances toxiques dont l'une au moins est douée d'affinité pour le système nerveux.

Les sérums antimicrobiens ont une action thérapeutique locale certaine.

CHAPITRE II

Technique et Matériel d'Etude

Dans ce chapitre, nous indiquerons avec détails la technique suivie pour la préparation de nos divers sérums, pour les différentes épreuves d'agglutination et de saturation des agglutinines ; enfin, nous donnerons quelques renseignements sur l'origine et les caractères des microbes qui nous ont servi.

I. Préparation des sérums antimicrobiens.

Nous avons obtenu des sérums agglutinants pour le bacille diphtérique chez le lapin, la chèvre et le cheval. Ces trois espèces animales donnent des ré-

sultats inégaux, le cheval étant incontestablement la meilleure. Mais, quand il s'agit de préparer un sérum uniquement pour les besoins du laboratoire, on conçoit que l'on soit obligé de s'adresser au lapin.

IMMUNISATION DES LAPINS

Cette immunisation a été difficile. Sur 73 lapins, un très grand nombre sont morts sans donner de sérum utilisable. 18 seulement ont fourni un bon sérum. Que l'on s'adresse aux injections intra-veineuses ou intra-péritonéales, que l'on injecte des bacilles vivants ou morts, les animaux supportent très inégalement le traitement et les différences semblent attribuables autant aux variations de toxicité que l'on trouve d'un microbe à l'autre, qu'à la résistance inégale des animaux. La mort peut survenir très rapidement en 24 ou 48 heures ou bien en moins d'une semaine ; dans ce cas, fréquemment, elle est précédée de paralysie ; d'autres fois, elle se produit en 2 à 3 semaines après une cachexie progressive.

Injectons intra-péritonéales de bacilles tués. — Les bacilles tués par la chaleur (1/2 heure à 70°), à la dose de 2 à 5 milligrammes, amènent très souvent la mort de l'animal ; ils sont parfois assez bien tolérés. Même des injections répétées ne sont pas suivies de la production d'agglutinines ; elles ne permettent pas davantage de pratiquer ensuite des injections intra-veineuses de bacilles vivants.

Ainsi, deux lapins qui avaient reçu en 4 injections

à 8 jours d'intervalle l'un 25 milligrammes, l'autre 35 milligrammes de bacilles tués dans le péritoine, sont morts, le premier en 8 jours, le second en 5 jours, après injection de 0,25 milligrammes de bacilles vivants dans la veine.

Injectons intra-veineuses de bacilles tués. — Elles provoquent l'apparition d'agglutinines, mais peuvent être très dangereuses, tuant l'animal même à la dose de 0,5 ou 0,25 milligrammes. En tous cas, aucun lapin ne nous a donné de sérum agglutinant à plus de 1/50 à la suite de telles injections.

On peut commencer l'immunisation par des bacilles tués et au bout d'un certain temps la poursuivre avec des bacilles vivants, s'il s'agit d'une souche relativement peu toxique, telle que l'est le bacille américain de Park-Williams. Ce procédé nous a donné un bon résultat (voir tableau n° 1), un autre médiocre et de nombreux échecs.

TABLEAU N° 1

Lapin bacille américain n° 4.

Dates.	Poids.	Injectons B. en mgr.	Agglut. du B. Am.
15-6	1530	0,5 tués	
19-6	1550	0,5 tués	
20-6	1560	0,5 tués	
21-6	1600	0,5 tués	
29-6	1740	0,5 vivants	+ 100
30-6	1740	0,5 vivants	
9-7	1670	0,5 vivants	+ 400
11-7	1670	1,0 vivants	
17-7	1600		+ 800

Injectons intra-veineuses de bacilles vivants. —

Les bacilles vivants en injections intra-veineuses, ne nous ont donné que des échecs. Même à doses très faibles, telles que 1/50 de milligrammes, ou bien l'animal est tué en quelques jours, ou bien il paraît supporter l'immunisation et reçoit même parfois de nouvelles injections, mais finit par mourir en une ou deux semaines.

Nous avons essayé d'atténuer la toxicité des bacilles vivants en neutralisant la toxine soluble qui pouvait leur être restée adhérente. Pour cela, ils étaient mis en contact avec un excès de sérum antidiphtérique antitoxique, puis lavés à l'eau salée par centrifugation à plusieurs reprises. Les bacilles ainsi traités se sont montrés à peu près aussi toxiques que les bacilles vivants.

Injectons simultanées de bacilles vivants et d'antitoxine. — Le procédé qui nous a donné de beaucoup les meilleurs résultats, consiste à injecter simultanément des bacilles vivants non atténués et de l'antitoxine diphtérique. On peut injecter de 2 à 3 milligrammes de bacilles dans la veine et en même temps 2 à 3 cc. de sérum antitoxique dans le péritoine de l'animal. Au cours de l'injection suivante, on diminuera la quantité de sérum ou même on la supprimera (voir tableau n° 2).

Nous avons eu ainsi deux sérums satisfaisants pour une dizaine d'échecs.

TABLEAU N° 2

Lapin bacille Durand n° 1.

Dates.	Poids.	Inj. b. viv. veine.	Inj. ser. périt.	Aggl. du B. Durand.
12-4	2650	2 mgr. 5	3 cc.	
17-4	2740	2 mgr. 5	0 cc. 5	
20-4	2620	1 mgr.		
27-4	2670	1 mgr.		
14-5	2110			+ 400
26-5	2100	1 mgr.		
6-6	2100	2 mgr. 5		
13-6	1900			+ 800
15-6	1840			
20-6	1640			+ 1600 + 3200

Il est encore préférable d'injecter dans la veine un mélange de sérum et de bacilles. Ce dernier procédé est celui qui nous a donné les meilleurs résultats (sur 14 animaux, 10 sérums bons, 1 médiocre, 3 n'ayant pu agglutiner ni leur microbe non agglutinable, ni aucun autre microbe), à condition d'injecter environ 4 à 5 mgr. de bacilles mélangés depuis environ 1/2 heure à 1 heure avec 1 à 2 cc. de sérum de très fort pouvoir antitoxique (plus de 500 unités au centimètre cube), (voir tableaux n° 3, 4, 5, 6, 7 et 8). Les injections suivantes peuvent comporter jusqu'à 20 mgr. de bacilles additionnés de 1.000 à 1.500 unités antitoxiques. Elles se font à intervalles d'environ 7 jours, en tenant compte des variations de poids de l'animal pour augmenter les doses ou pour diminuer leur fréquence. En général, on obtient

ainsi en 3 injections un sérum qui agglutine à 1/800 ou 1/1600.

Il est à remarquer que l'on peut parfois obtenir un sérum fortement agglutinant malgré que l'animal meure du traitement. Ainsi le lapin Nodet n° 6 (voir tableau n° 4) meurt cinq jours après la dernière injection et cependant le sérum du sang pris dans le cœur très peu de temps après la mort agglutine à plus de 1/640.

TABLEAU N° 3

Lapin bacille Laissus n° 2.

Dates.	Poids.	Injections en mgr. B. vivants.	Agglut. du B. Laissus.
11-12	1620	4 mgr. + 1000 U. A.	
19-12	1570	10 mgr. + 1500 U. A.	— 20
24-12	1400		+ 320
26-12	1420	20 mgr. + 1500 U. A.	
30-12	1380		+ 1280
1-1	1520		+ 800 <u>+ 1600</u>

TABLEAU N° 4

Lapin bacille Nodet n° 6.

Dates.	Poids.	Injections B. vivants.	Agglut. du B. Nodet.
19-12		5 mgr. + 1000 U. A.	— 10
24-12	1600		+ 10
26-12	1540	20 mgr. + 1500 U. A.	
30-12	1490		+ 160 <u>+ 320</u>
2-1	1600	20 mgr. + 1000 U. A.	
7-1	1350	mort	+ 640 <u>+ 1280</u>

TABLEAU N° 5

Lapin bacille Sobry n° 13.

Dates.	Poids.	Injections B. vivants.	Agglut. du B. Sobry.
19-12	1780	5 mgr. + 1000 U. A.	— 10
24-12	1690		+ 40
26-12	1560	20 mgr. + 1500 U. A.	
30-12	1600		+ 160
9-1	1550	20 mgr. + 1000 U. A.	
7-1	1500		+ 640 + 1280
10-1	1410		+ 640

TABLEAU N° 6

Lapin bacille Sirbeaux n° 2.

Dates.	Poids.	Injections B. vivants.	Agglut. du B. Sirbeaux.
11-12	1620	4 mgr. + 1000 U. A.	
19-12		10 mgr. + 1500 U. A.	+ 20
24-12	1520		+ 320
26-12	1470	10 mgr. + 1500 U. A.	
30-12	1360		+ 1280
1-1	1380		+ 800 + 1600

TABLEAU N° 7

Lapin bacille Seignol n° 1.

Dates.	Poids.	Injections B. vivants.	Agglut. du B. Seignol.
11-12	1760	4 mgr. + 1000 U. A.	
18-12	1780		+ 20
19-12	1700	10 mgr. + 1500 U. A.	
24-12	1740		+ 20 + 40
26-12	1680	20 mgr. + 1500 U. A.	
30-12	1640		+ 80
2-1	1660	20 mgr. + 1000 U. A.	
7-1	1530		+ 160 + 320
10-1	1520		+ 640

Nous avons essayé d'injecter des doses de bacilles beaucoup plus faibles, par exemple $1/50$ de milligrammes de bacilles vivants mélangés à 150 à 200 unités de sérum antitoxique. Dans ces conditions, cinq animaux sont morts en une à quatre semaines après une seule injection et, chose curieuse, un lapin traité par des injections du même microbe et du même sérum, à doses beaucoup plus fortes, a fourni un excellent sérum.

Quel que soit le procédé employé, le sérum de lapin ne s'est jamais montré dans les cas favorables agglutinant qu'à $1/800$, parfois à $1/1600$, c'est-à-dire à un taux beaucoup moins élevé que le sérum de chèvre ou de cheval, comme nous le verrons plus loin. Il s'est montré capable, parfois, de coagglutiner à un degré élevé certains groupes de bacilles diphtériques ; enfin, le sérum de lapin normal peut agglutiner à $1/50$ certains bacilles diphtériques.

On pourrait penser que l'injection à l'animal de sérum de cheval développe des précipitines anti-cheval capables d'intervenir dans les tentatives d'agglutination de bacilles diphtériques cultivés sur sérum de cheval coagulé. Nous verrons dans la suite que l'injection de ce sérum équin au lapin n'est nullement gênante pour apprécier les résultats de l'agglutination.

IMMUNISATION DES CHÈVRES

Nous avons immunisé trois chèvres vis-à-vis du même bacille diphtérique, l'une avec du bacille

vivant lavé dans l'eau salée, l'autre avec des bacilles tués par séjour d'une 1/2 heure à la température de 70°, la troisième avec des bacilles vivants mais sensibilisés par un sérum agglutinant homologue de cheval et ayant été ensuite lavés. Les doses étaient les mêmes pour les trois antigènes et les injections se faisaient dans la veine à raison d'une injection par jour, pendant trois jours consécutifs, chaque série d'injections étant suivie d'un repos d'une semaine. Les doses étaient doublées, en principe, à chaque injection, la première injection d'une série étant faite à la même dose que la dernière injection de la série précédente. A partir de la troisième série, une injection à faible dose était pratiquée la veille de la série de façon à désanaphylactiser l'animal.

Les doses qui ont débuté par 1/4 de mgr. ont été amenées progressivement pour ces trois animaux à 300 mgr. cinq mois après le début de l'immunisation.

La température, prise matin et soir, montait en général de 1 à 2 degrés le jour de l'injection désanaphylactisante et restait sensiblement à la normale les jours suivants, même lorsque ces jours-là on injectait des doses considérables. Ainsi, le thermomètre monte à 41°5 un jour où l'on injecte 30 mgr., descend le lendemain matin à 39°6 et reste entre 39°3 et 39°6 les jours suivants, malgré l'injection ces jours-là de 80, 160, 300 mgr. de bacilles diphtériques vivants.

Chez la chèvre « bacilles sensibilisés », malgré que les microbes eussent été lavés à plusieurs reprises

avant de les injecter, nous vîmes se produire, dans la minute qui suivait certaines injections, des accidents nettement du type anaphylactique. Il s'agissait toujours, dans ces cas, de l'injection dite désanaphylactisante, peut-être pratiquée avec une trop forte dose.

Au cours des deux premiers mois, les saignées pratiquées pour juger des taux d'agglutination ont donné des résultats très confus. Dans la série des tubes contenant les émulsions microbiennes et les dilutions de sérum, alors que l'agglutination était extrêmement nette dans les tubes contenant 1/20, 1/40, 1/80 de sérum, l'agglutination diminuait d'intensité pour s'éteindre très progressivement dans les 4 ou 5 tubes suivants, si bien qu'il était impossible d'assigner une limite nette au phénomène.

A partir du troisième mois, le taux supérieur de l'agglutination se précisa à un tube, ou au plus à deux tubes donnés. Il monta lentement jusqu'à atteindre 1/6400 au cinquième mois pour la chèvre immunisée avec des bacilles vivants, 1/1600 pour la chèvre immunisée avec des bacilles tués, 1/800 pour la chèvre immunisée avec des bacilles sensibilisés. Ce taux correspondait à des injections de 200 mgr. de bacilles au minimum. A la suite d'injections de 220 et 300 mgr., le taux de l'agglutination baissa pour les trois sérums.

Désirant nous rendre compte de la valeur antigénique comparée des bacilles tués et des bacilles vivants, nous avons injecté plus tard à la chèvre « bacilles vivants » des bacilles tués ; le taux d'agglu-

tination passa de $1/6400$ à $1/1600$, $\pm 1/3200$. Inversement, la chèvre « bacilles tués » vit, après avoir reçu des bacilles vivants, passer son taux d'agglutination de $1/1600$ à $1/3200$.

A signaler que sous l'influence d'injections combinées de bacilles diphtériques et de néosalvarsan le taux de l'agglutination eut tendance à monter.

IMMUNISATION DU CHEVAL

Le cheval est l'animal dont l'immunisation est la plus facile et la mieux réglée. Nous n'avons jamais eu d'incidents graves et n'avons perdu aucun des huit chevaux que nous avons traités. On peut s'adresser soit à un cheval normal, soit à un cheval ayant déjà subi une immunisation antidiphtérique antitoxique.

Immunisation d'un cheval normal. — Antigène.
— Comme pour les lapins ou les chèvres, les bacilles injectés sont des bacilles cultivés en boîtes de Pétri, sur sérum coagulé, ou des bacilles cultivés en bouillon. Pour en apprécier la quantité, l'émulsion bacillaire obtenue à partir de la culture solide (ou bien la culture en bouillon elle-même) est centrifugée dans des tubes tarés que l'on pèse ensuite avec le culot ou encore mieux dans des tubes spéciaux à appendice cylindrique calibré et gradué de façon telle qu'une certaine hauteur du culot obtenu après centrifugation prolongée corresponde à un poids déterminé de bacilles pesés à l'état humide.

Le culot bacillaire ainsi pesé est alors émulsionné dans du sérum physiologique, lavé par une nouvelle centrifugation, puis réémulsionné dans de l'eau salée. On obtient ainsi l'antigène qui sera injecté à l'animal. Au début de l'immunisation, l'émulsion est faite au titre de 2 mgr. par cc. ; plus tard, quand l'animal est déjà en bonne voie d'immunisation, l'émulsion peut être faite à 1 cgr. de bacilles par cc.

Injections. — On fait, en principe, des séries de trois injections intra-veineuses séparées par un intervalle d'environ une semaine. Les doses sont progressivement croissantes, doublant environ à chaque injection, et dans les premières séries au moins, la première injection étant égale à la dernière de la série précédente. A partir de la deuxième ou de la troisième série, on fait une injection désensibilisante à faible dose. Quand les doses sont convenables, la température du cheval monte le soir de l'injection à environ 40° et est revenue à la normale le lendemain matin. Si la température n'atteint pas 39°5, on augmentera davantage les doses suivantes ou l'on fera une injection supplémentaire. Si elle a dépassé 40°5, ou bien si elle n'est pas revenue à moins de 38° le lendemain matin, on diminuera la dose suivante ou même on la supprimera.

D'une façon générale, le cheval réagit bien à l'injection de bacilles diphtériques, c'est-à-dire que, à la suite d'une injection, la température fait une élévation brusque et brève. Une seule fois, nous avons rencontré une jument qui, au début de son immunisation, faisait à la suite de chaque injection une tem-

pérature peu élevée ne dépassant pas 38°5, mais durant plusieurs jours. Plus tard, ces réactions se rapprochèrent du type normal. Au début de l'immunisation d'un cheval, il est prudent de ne pas essayer d'atteindre la température de 40°. Il est également prudent d'injecter tout au début 10 cc. de sérum antidiphtérique ordinaire. Lorsque le cheval est bien immunisé, les séries d'entretien sont d'environ 10, 50, 100 et 200 mgr. La plus forte dose injectée, sans inconvénient d'ailleurs, a été de 400 mgr.

Même chez des animaux immunisés depuis longtemps, à la fois aux bacilles diphtériques et à sa toxine, s'il pénètre une certaine quantité d'émulsion bacillaire dans les tissus périveineux, il se produit une violente inflammation, parfois une phlébite qui rend la veine inutilisable pour les saignées et les injections.

Le titre agglutinant du sérum de cheval est toujours élevé. Il peut atteindre 1/6400 en un mois. (voir tableau Masqué). D'autres fois, on constate au début une période d'agglutination indécise comme nous l'avons vue chez la chèvre, puis l'agglutination se précise et, en deux mois, deux mois et demi au plus, le taux atteint 1/6400 et peut même arriver à 1/12800, exceptionnellement 1/25.600.

Lorsqu'un cheval normal reçoit des injections de bacilles diphtériques vivants, même bien lavés, son sérum acquiert toujours, au bout d'un certain temps, des propriétés légèrement antitoxiques. Ainsi, les sérums des chevaux Lascar, Bichette et Masqué, obtenus après immunisation purement antimicro-

bienne, agglutinaient à 1/6400 les bacilles correspondants, mais possédant une valeur antitoxique de 2 à 5 unités par cc.

TABLEAU N° 8.

Cheval Masqué (bacille Laissus).

Dates	Tempé- ratures	Injection de bac. viv.	Anti- toxine	Taux d'agg.	Valeur antitoxique
30-12	37,8 37,9	2 mgr. +	3 cc.		
1-12	37,9 39	4 mgr.			
2-12	37,3 39,4	10 mgr.			
3-12	37,5				
11-12	37,8	5 mgr.			
12-12	37,4 39,8	10 mgr.			
13-12	37,3 39,7	30 mgr.			
14-12	37,7 38,7	50 mgr.			
15-12	37				
21-12	37,4 38,5	5 mgr.		+ 3200	
22-12	37,4 39,6	40 mgr.			
23-12	38,3 40	50 mgr.			
24-12	37,3 40	60 mgr.			
25-12	37,9				
3-1				+ 6400	2 U A

Immunisation d'un cheval ayant déjà reçu de la toxine diphtérique. — Cette immunisation est aussi facile que la précédente et risque encore moins d'amener des incidents imprévus ; elle se fait de la même façon en arrêtant les injections de toxine, ou bien on alterne les injections bacillaires intra-veineuses et les injections sous-cutanées de toxine. (Le tableau ci-joint indique la marche suivie).

Lorsqu'un cheval déjà antitoxique reçoit des injections alternées de bacilles diphtériques et de toxine diphtérique, il ne semble pas que l'injection de bacilles modifie beaucoup la teneur de son sérum en unités antitoxiques.

TABLEAU N° 9.

Cheval Billebande (bacille Am. P.-W. n° 8).

Le cheval est immunisé par des injections de toxine diphtérique du 30/1 au 15/10. Le sérum titre le 15-10 300 U. A.

Dates	Températures	Injections	Taux d'agg. et val. antitox.
16-10	37,8 38,4	2 mgr.	— 40 0 U. A.
17-10	37,7 38,5	8 mgr.	
18-10	37,5 40	10 mgr.	
19-10	38,3		
22-10	37,7 38,8	10 mgr.	
23-10	37,8 39,2	20 mgr.	
24-10	37,9 38,3	50 mgr.	
25-10	37,5	100 mgr.	

Dates	Températures	Injections	Taux d'aggl. et val. antitox.
	39		
26-10	37,9		
30-10			+ 1600
31-10		200 cc. tox.	
2-11		300 cc. tox.	
4-11	37,5	350 cc. tox.	
		+ 10 mgr.	
	38,5	50 mgr.	
5-11	37,7		
	39,9		
6-11	37,8	100 mgr.	
	39,5		
7-11	38		
13-11			+ 3200
14-11		200 cc. tox.	
19-11		250 cc. tox.	
25-11		300 cc. tox.	
6-12	37,7	10 mgr.	
	39,4		
7-12	37,5	10 mgr.	
	40,4		
8-12	37,9	60 mgr.	
	39,9		
9-12	37,6	120 mgr.	
	40		
10-12	38,2		
11-12		250 cc. tox.	
14-12	37,8	10 mgr.	
	38		
15-12	38	40 mgr.	
	38,9		
16-12	38,2	80 mgr.	
	39,8		
17-12	38	160 mgr.	
	38,9		
18-12	38	320 mgr.	
	39,7		
19-12	38,4		
27-12			+ 12800 275 U. A.

Les chevaux déjà antitoxiques avaient toujours été traités par de la toxine jeune provenant du bacille Américain Park-Williams n° 8, bacille qui est utilisé dans tous les Instituts pour la production de la toxine diphtérique. Au moment où on a commencé de pratiquer des injections bacillaires, leurs sérums n'avaient pas d'action agglutinante marquée sur le bacille Américain.

Au fur et à mesure qu'il acquérait des propriétés agglutinantes pour le bacille qui leur avait été injecté, le sérum devint en même temps capable d'agglutiner à un taux assez élevé le bacille Américain. Cette coagglutination pouvait être supprimée par saturation du sérum avec le bacille Américain.

Indiquons que le sérum de cheval normal ou immunisé contre la toxine tétanique, le méningocoque ou le bacille dysentérique, a souvent agglutiné certains bacilles diphtériques au taux de 1/12 à 1/25, très rarement à 1/100 dans les conditions habituelles.

Le sérum de cheval immunisé par des injections de toxine diphtérique jeune, n'a jamais agglutiné à un taux plus élevé que les sérums normaux.

II. Agglutination.

Émulsion microbienne. — Le premier temps, qui est loin de ne présenter aucune difficulté, consiste à obtenir une suspension homogène des bacilles diphtériques, qui poussent le plus souvent en grumeaux ou même en voile sur bouillon. L'agitation

fréquente, voire même continue par une machine à agiter, peut rendre assez homogènes les cultures en bouillon. Le procédé ne réussit qu'après plusieurs générations ; il est peu pratique quand on doit manipuler un grand nombre de cultures ; enfin, il n'est pas infaillible.

Le chauffage à 100°, suivant le premier procédé Martin, nous a donné de bons résultats, à côté d'autres moins bons ; de plus, une série d'expériences nous a montré que la spécificité et le taux élevé de l'agglutination étaient un peu moindres avec des bacilles chauffés qu'avec des bacilles vivants.

Nous avons encore obtenu des résultats variables avec des cultures de 24 heures sur gélose pomme de terre de Dopter. La culture est souvent très abondante. Après raclage et émulsion en eau salée à 9 ‰, la suspension est très souvent stable.

Les deux procédés auxquels nous avons eu le plus souvent recours sont les suivants :

Partant de cultures en bouillon, de 24 heures de préférence, on les centrifuge et le culot est soigneusement émulsionné dans une très faible quantité d'eau salée, en roulant un fil de platine contre les parois du tube qui contient les microbes. On ajoute ensuite quelques centimètres cubes d'eau salée, de façon à obtenir une émulsion contenant environ 1 à 3 centigrammes de bacilles par centimètre cube (quantité appréciée d'abord par comparaison avec un étalon, puis à l'œil). Le tube est alors placé une nuit à la glacière, en position verticale. Le lendemain, on décante le liquide homogène qui surnage

le dépôt et on le dilue avec de l'eau salée de façon à obtenir une émulsion de 1 à 2 milligrammes par cc.

On peut encore partir d'une culture de 24 heures sur boîte de Pétri de sérum fraîchement coagulé à 80°-90°. La culture raclée est émulsionnée dans une petite quantité d'eau salée par aspirations et rejets successifs à travers l'effilure fine d'une pipette Pasteur. La suspension, amenée à 1, 2 ou 3 cgr. par centimètre cube, est mise à sédimenter à la glacière et traitée comme précédemment.

Malgré la technique indiquée, il arrive assez souvent qu'un microbe se sédimente complètement en quelques heures, laissant au-dessus du dépôt le sérum physiologique complètement clair. Ce peut être là un accident passager, dû quelquefois à une insuffisance de broyage de la culture contre les parois du tube. Parfois aussi, un échantillon se refuse à tout coup à fournir une émulsion stable.

Dilution des sérums. — L'émulsion stable une fois obtenue et amenée à 1 ou 2 mgr. par cc., est mélangée à la dose de 0 cc. 5 avec même volume d'une dilution de sérum. Comme l'agglutination par les sérums de chevaux normaux ne dépasse jamais 1/200, on se contente parfois de mélanger 0 cc. 5 de microbes avec 0 cc. 5 de sérum dilué à 1/200, ce qui donne le taux de 1/400.

D'autres fois, on pousse l'agglutination plus loin, en général aux taux de 1/400, 1/800, 1/1600, 1/3200, 1/6400. Ces taux successifs sont facilement obtenus de la façon suivante : On dispose 6 tubes à agglutination sur un porte-tube et l'on verse dans chacun

d'eux, sauf le premier, 0 cc. 5 d'eau salée. Ayant préparé une dilution à $1/200$ du sérum à essayer, on en met 0 cc. 5 dans le premier tube, vide, et 0 cc. 5 dans le second tube contenant déjà 0 cc. 5 d'eau salée, ce qui donne, après agitation, 1 cc. de sérum à $1/400$. On reprend 0 cc. 5 dans ce tube, que l'on porte dans le troisième, ce qui donne 1 cc. de sérum à $1/800$ et l'on continue ainsi jusqu'au sixième tube compris. Quand on a obtenu dans ce dernier 1 cc. de sérum à $1/3200$, on en rejette la moitié. On distribue alors uniformément 0 cc. 5 de microbes dans tous les tubes, ce qui, après agitation, donne les taux $1/400$, $1/800$, $1/1600$, $1/3200$, $1/6400$. Dans le sixième tube, l'émulsion bacillaire diluée par du sérum physiologique servira de témoin. On peut d'ailleurs y remplacer le sérum physiologique par 0 cc. 5 de dilution à $1/50$ de sérum de cheval normal. La même technique est naturellement suivie avec des taux plus bas pour les sérums de lapins.

Séjour à l'étuve et lecture des résultats. — L'agglutination du bacille diphtérique est relativement lente. Elle ne se fait que très incomplètement à la température ordinaire au bout de vingt-quatre heures, et est rendue difficile à apprécier dans ces conditions lorsque la sédimentation spontanée du bacille est quelque peu marquée.

Elle se fait mieux à la température de 37° . Elle débute alors vers la troisième heure, devient complète de la cinquième à la septième heure, le liquide s'étant complètement éclairci ou laissant nager de gros grumeaux. Il est bon, dans ces conditions, de

lire les résultats après huit heures, alors qu'aucune sédimentation n'a eu le temps de s'effectuer.

Le mieux, toutefois, est d'opérer entre 45° et 55°. La température de 45 à 48° est très facilement obtenue en se servant de porte-tubes en bois dont la base, épaisse de 12 à 15^{mm}, est placée sur le fond en cuivre d'une étuve à gaz de Roux, grand modèle. L'agglutination est plus rapide, encore plus nette, et appréciable au premier coup d'œil après six heures.

L'agglutination est dite positive et marquée + quand les grumeaux très gros ont une tendance évidente à se rassembler pour laisser le liquide clair ou même se sont complètement ramassés au fond du tube. Elle est dite incomplète et marquée $\pm$ quand les grumeaux sont plus petits, quoique très nets à l'œil nu, et ne paraissent gagner que très lentement ou pas du tout le fond du tube.

Parfois, avec les sérums d'animaux insuffisamment immunisés, l'agglutination est incomplète dans trois ou quatre tubes successifs, et ne se délimite pas, même par un séjour plus prolongé à l'étuve. De tels sérums sont inutilisables et l'immunisation des animaux doit être poursuivie.

Une agglutination incomplète dans plusieurs tubes peut se produire encore avec le sérum de chevaux injectés à la fois avec la toxine du bacille Park n° 8 (dit Américain ou Am.) et avec un bacille d'un autre groupe que ce dernier, lorsqu'on met en présence du sérum un bacille du groupe du B. Américain.

Cette coagglutination incomplète disparaît par saturation de ces sérums avec le B. Am.

Dans tous les autres cas, la limite supérieure de l'agglutination est très tranchée, un tube négatif faisant suite à un tube positif, ou n'en étant séparé que par un seul tube où le phénomène est incomplet.

A signaler qu'il peut y avoir une limite inférieure à l'agglutination, surtout si l'on a essayé des concentrations relativement fortes de sérums. Ainsi, un microbe complètement agglutiné à $1/6400$, $1/3200$, $1/1600$, $1/800$, $1/400$ ne le sera qu'incomplètement à $1/200$ et pas du tout à $1/100$. Nous n'avons jamais vu se produire ce phénomène, rare d'ailleurs, qu'avec des microbes agglutinables à un taux très élevé, et cette limite inférieure a rarement atteint $1/400$.

Certains microbes sont nettement agglutinables par un sérum, mais à un taux peu élevé, $1/400$ ou $1/800$, alors que ce sérum agglutine d'autres souches à $1/6400$. Parfois, ils restent peu agglutinables, quelques-uns le deviennent après un certain temps de séjour au laboratoire sur milieux artificiels. Nous avons cherché si une série de repiquages pouvait augmenter l'agglutinabilité d'un microbe peu agglutinable par un sérum donné. Trois échantillons que la saturation des agglutinines nous avait montrés appartenir au type V et qui étaient respectivement agglutinés à $1/600$, $1/400$, $1/200$, par un sérum homologue, furent repiqués quotidiennement pendant un mois. Ils ne se montrèrent pas plus agglutinables au trentième qu'au premier de ces repiquages.

Inversement, des souches plus nombreuses, puisque nous en avons rencontré une dizaine, peuvent perdre avec le temps une agglutinabilité qu'elles

avaient nettement manifestée. Ainsi le microbe Bat... est agglutiné au moins à 1/3200 le 26 janvier. Il ne l'est plus qu'à 1/1600 en mai de la même année et même pas à 1/400 un mois plus tard. Cette perte de l'agglutinabilité, sans perte du pouvoir de fixer les agglutinines, a été rencontrée dans un certain nombre de bacilles, appartenant au même type et isolés à peu près à la même époque.

III. — Saturation des agglutinines

Une série d'expériences nous a montré la nécessité, pour obtenir une saturation suffisante des agglutinines, de mettre en contact à deux reprises la dilution du sérum à examiner avec une suspension assez épaisse de bacilles. Par exemple, pour pratiquer la saturation d'un sérum de cheval agglutinant un microbe à 1/6400 avec ce même microbe, on fait d'abord une dilution du sérum à 1/16,5 et une émulsion de 3 à 5 egr. du microbe par cc. Il n'est pas nécessaire d'employer de grandes précautions pour assurer l'homogénéité de cette émulsion et l'on peut, sans inconvénient, se servir des microbes qui se sont déposés au fond du tube au cours de la sédimentation des suspensions destinées à l'agglutination.

La dilution de sérum à dose de 0 cc. 5 est mélangée dans un petit tube à 0 cc. 5 d'émulsion bacillaire. Le tout, après agitation, est mis à l'étuve à 37° pendant trois ou quatre heures, puis centrifugé à grande

vitesse dans le tube même, de façon à obtenir un culot compact. Le liquide surnageant, qui se trouve à la dilution de $1/33$, est enlevé avec une pipette effilée, aussi complètement que possible et placé dans un autre petit tube. On lui ajoute encore 0 cc. 5 de microbes et on place de nouveau à l'étuve à 37° trois ou quatre heures. Une nouvelle centrifugation donne alors, surnageant le culot, environ 1 cc. 5 de sérum saturé à la dilution de $1/50$. C'est cette dilution qui servira à vérifier si les agglutinines ont été adsorbées ou non.

Pour cela, on dispose une série de petits tubes, le premier vide, tous les suivants contenant 0 cc. 5 d'eau salée. Dans le premier on met 0 cc. 5 de la dilution de sérum saturé ; dans le second tube on met encore 0 cc. 5 de la même dilution ; puis, reprenant 0 cc. 5 du mélange du second tube, on le fait passer successivement dans chacun des tubes suivants en doublant ainsi chaque fois le taux de la dilution. Les dilutions sont alors de $1/50$, $1/100$, $1/200$, $1/400$ etc. On ajoute dans chacun des tubes $1/2$ cc. de suspension microbienne homogène à 1 ou 2 mgr. par cc. d'un *microbe homologue* du sérum employé, de façon à obtenir les dilutions finales de $1/100$, $1/200$, $1/400$, $1/800$, etc. . . .

En même temps qu'on fait subir toutes ces manipulations au sérum que l'on sature avec un microbe donné, on traite de même 0 cc. 5 de sérum, mais en remplaçant les émulsions microbiennes épaisses par de l'eau salée. Ce sérum témoin montrera qu'aucun facteur autre que l'adsorption des agglutinines n'est intervenu.

Après un dernier séjour de six heures à l'étuve, de préférence à 45° ou 50°, on lit le taux maximum de l'agglutination dans la série des tubes en expérience et dans la série des tubes témoins. Quand le microbe saturant est homologue du sérum saturé, on constate qu'il n'y a aucune agglutination, même à 1/100, alors que le sérum témoin agglutine par exemple très nettement à 1/3200. Dans ce cas, on dit que les agglutinines ont été réduites par l'adsorption à moins de 1/32 de leur valeur primitive.

S'il y avait eu agglutination à 1/100 et non à 1/200, on dirait que les agglutinines ont été réduites à 1/16 de leur valeur.

La saturation d'un sérum antidiphtérique par des microbes variés : staphylocoque, streptocoques, bacille typhique, bacille dysentérique, etc., n'a jamais réduit les agglutinines même à la moitié de leur valeur primitive.

Comme il n'est pas toujours possible de mener sans arrêt toutes les opérations décrites pour la saturation des agglutinines, on peut remplacer l'un quelconque des séjours de 3 heures à 37°, par un séjour d'une nuit à la glacière. L'absorption se fait à + 2 ou + 3° aussi bien, mais plus lentement qu'à 37°.

IV. — Bacilles diphtériques utilisés.

Nous avons isolé en culture pure au cours des années 1918, 1919, 1920 et 1921, un grand nombre de bacilles diphtériques et pseudo-diphtériques. Les

bacilles diphtériques provenaient soit de malades ou de porteurs sains de germes, hospitalisés dans des formations militaires, soit de malades ou de porteurs sains du service des diphtéries de la Charité à Lyon. Parmi ces malades de la Charité, il eut à un moment donné des enfants rapatriés des régions envahies soit par l'intérieur de la France, soit par la Belgique, l'Allemagne et la Suisse, de même parmi les militaires, les uns avaient été contagionnés dans toute l'étendue de la XIV^e Région, d'autres au cours d'une permission, ou même dans une formation du front. Nous avons donc eu la chance de recueillir des bacilles provenant, non pas d'une seule épidémie, localisée, mais d'origines tout-à-fait distinctes.

Ces bacilles ont été recueillis sans grande continuité. Quelques-uns ont été systématiquement isolés dans des diphtéries mortelles et proviennent alors, en même temps que des voies respiratoires, des organes, du sang ou du système nerveux, examinés à l'autopsie. D'autres ont été recueillis plus particulièrement chez des malades qui présentaient des paralysies diphtériques. Enfin, d'autres avaient donné des localisations anormales de la diphtérie : diphtérie cutanée.

Tous ces bacilles diphtériques présentaient les caractères morphologiques et cultureux typiques ; pourvus de granulations le plus souvent très nombreuses, parfois aussi en très petit nombre ; fermentant le glucose, capables de pousser en anaérobiose. La grande majorité a été inoculée au cobaye, souvent à forte dose (2 à 3 cc. d'une culture en bouillon de

48 heures). Presque toujours l'animal est mort en 24 ou 36 heures avec les lésions caractéristiques. Dans un certain nombre de cas, où l'animal a survécu, après avoir présenté un œdème local, l'inoculation a été répétée de préférence à doses plus fortes sur deux cobayes, dont l'un préalablement injecté avec 1 cc. de sérum antidiphtérique. Alors que l'animal sans sérum mourait ou présentait des lésions locales, l'animal passivement immunisé n'a jamais présenté de lésions.

Les bacilles pseudo-diphtériques proviennent de gorges saines ou malades, de conjonctives, du céramen ou de pus d'otites, de la peau ou de l'urètre. Ces bacilles présentent des caractères variables ; aucun n'est pathogène pour le cobaye. Certains ont des granulations de Neisser abondantes, font fermenter le glucose et répondent au type du *Corynebacterium cutis commune*. La plus grande partie est sans action sur les sucres et répond au type du bacille d'Hoffmann.

Aucun de ces bacilles diphtéroïdes n'a été agglutiné, ni n'a saturé les agglutinines de nos sérums antidiphtériques antimicrobiens.

CHAPITRE III

Les types de Bacilles diphtériques.

I. Agglutination.

Etant en possession de 282 bacilles diphtériques et d'un certain nombre de sérums agglutinants, nous avons tout d'abord soumis les bacilles à l'agglutination par les divers sérums. Cette première série d'expériences nous a montré qu'un sérum donné agglutine à un taux élevé un certain nombre de bacilles diphtériques et n'agglutine aucun des autres à un titre plus élevé que ne pourrait le faire un sérum normal.

Il s'est ainsi délimité un certain nombre de types de bacilles que nous appellerons : I, II, III, IV, V.

Parmi nos 282 microbes, 23 n'ont jamais pu don-

ner d'émulsion stable et n'ont, par conséquent, pu être soumis à l'agglutination. Trente échantillons provenant de malades, dont une autre souche avait déjà été étudiée, ont été soumis seulement à l'épreuve de la saturation des agglutinines. Sur les 229 microbes restant, et qui ont été mis en présence des divers sérums, 141 ont donné des résultats positifs avec l'un de nos cinq sérums types et se répartissent de la façon suivante, les noms entre parenthèses désignant l'échantillon ayant servi à l'immunisation du cheval producteur du sérum :

Type I (Américain), 37 échantillons.

Type II (Durand), 7 échantillons.

Type III (Nodet), 30 échantillons.

Type IV (Benjamin), 39 échantillons.

Type V (Sirbeaux), 28 échantillons.

Tout microbe appartenant à l'un de ces groupes peut donner, par injections aux lapins, un sérum agglutinant pour tous les microbes du groupe et d'une façon très générale seulement pour ces microbes. Une exception est cependant à signaler : le sérum de lapins préparés par injections d'un microbe du groupe II agglutine les microbes de ce groupe à 1/800 environ, mais il agglutine aussi à 1/400 ou à 1/800 un grand nombre de microbes du groupe III. L'inverse n'a pas lieu et un sérum de lapin traité par des injections d'un microbe du groupe III, n'agglutine pas les microbes du groupe II.

De même, ainsi que nous l'avons dit plus haut, le sérum de chevaux inoculés à la fois avec de la toxine du bacille américain et avec un microbe d'un autre groupe, coagglutine le bacille américain.

88 microbes, quoique donnant des émulsions stables, n'ont pu être agglutinés à un taux suffisant. Si nous mettons à part, parmi eux, 24 échantillons qui, ainsi que nous le verrons plus tard, peuvent être rattachés à l'un des cinq groupes précédents par la saturation des agglutinines, il reste 64 souches non susceptibles de s'agglutiner par nos sérums types. Avec un assez grand nombre d'entre elles, il a été préparé des sérums de lapins qui ont servi à faire des tentatives d'agglutinations croisées. Aucun de ces sérums n'a agglutiné un des bacilles types. La plupart agglutinaient à un taux élevé le microbe homologue. Un seul (sérum obtenu par le bacille Démonis) agglutina deux autres microbes (Thivollier et Dernoncourt).

Notre ensemble de 64 bacilles est donc formé d'une série de souches sans lien sérologique les unes avec les autres, ou bien qui ne forment que de petits groupes de 2 ou 3 échantillons, insuffisants, au moins momentanément, pour établir de nouveaux types.

II. Saturation des agglutinines.

L'agglutination qui nous a donné ainsi des résultats précis, et d'une grande importance, ne satisfait pas entièrement l'esprit. Il reste trop de microbes non classés; il reste surtout des bacilles dont la suspension n'est pas stable et pour lesquels on ne voit pas le moyen d'utiliser l'agglutination. Nous avons vu, d'autre part, qu'un certain nombre de

souches peuvent voir leur agglutinabilité varier ; celle-ci, il est vrai, change quantitativement et non qualitativement, c'est-à-dire qu'un microbe agglutinable par un sérum d'un type donné, pourra perdre son agglutinabilité par ce sérum, mais n'en acquerra jamais vis-à-vis d'un sérum d'un autre type. Si l'agglutination positive n'est guère trompeuse (exception faite des coagglutinations signalées), la négative n'a pas grande valeur. La saturation des agglutinines échappe à ces reproches. Pour autant que nous l'ont montré des expériences répétées sur des centaines de microbes, et souvent à plusieurs reprises pour chacun d'eux, elle permet de rapporter à un type d'un microbe donné, que sa suspension soit stable ou non, qu'il soit agglutinable ou non, quelles que soient les variations de son agglutinabilité. Une épreuve négative permet d'affirmer qu'un microbe est étranger au type du sérum employé. Elle permet enfin d'éviter les deux erreurs possibles que nous avons rencontrées, à savoir : coagglutinine pour le type I dans les sérums de chevaux immunisés à la fois avec un bacille d'un autre type et avec la toxine du bacille Park Williams n° 8, coagglutinines pour le type III, des sérums de lapins préparés par l'injection d'un microbe du type II. Dans ce cas, la saturation du sérum de cheval par le bacille américain laisse persister entièrement, mais isolées, les agglutinines pour le type du microbe injecté en même temps que la toxine ; la saturation du sérum de lapin du type II par un microbe du type III, ne laisse persister que les agglutinines du type II.

La saturation des agglutinines a été appliquée à tous nos microbes, sauf quelques exceptions dans lesquelles l'agglutination avait été parfaitement typique. Le plus souvent, elle a été faite avec un microbe donné pour plusieurs types de sérums, parfois pour tous les types. D'autres fois, elle n'a été mise en œuvre que pour le sérum qui avait agglutiné le microbe, servant ainsi à vérifier l'agglutination. Ces essais nous ont permis de vérifier tout d'abord les résultats des épreuves d'agglutination et de les compléter. Des 23 microbes dont l'émulsion n'a jamais été homogène, 2 ont été rapportés au type I, 6 au type IV et 10 au type V. 24 microbes qui s'étaient montrés constamment inagglutinables ont été rapportés, un au type I, un au type II, 4 au type III, 17 au type IV et un au type V. 30 microbes qui n'avaient pas été soumis à l'agglutination, ont été rangés : 4 dans le type III, 14 dans le type IV, 12 dans le type V. Il n'est donc resté à classer que cinq souches à émulsion non stable et 64 échantillons plus ou moins sérologiquement isolés (y compris les 3 échantillons du petit groupe Démolis, groupe confirmé également par la saturation).

Les tableaux suivants donnent les résultats d'agglutination et de saturation des agglutinines pour l'ensemble de nos bacilles diphtériques. Pour les lire, on voudra bien tenir compte des conventions suivantes : tout chiffre précédé du signe + indique que le microbe, qui occupe la même ligne horizontale, a été agglutiné par le sérum correspondant au taux indiqué, mais ne l'a pas été ou l'a été incom-

plètement à un taux supérieur ; tout chiffre affecté du signe $>$, indique que l'agglutination a été obtenue à ce taux, mais n'a pas été recherchée à un taux plus élevé. Enfin, tout chiffre précédé du signe — signifie que l'agglutination a été complètement négative pour ce taux, qui a été le plus bas auquel celle-ci ait été recherchée.

En ce qui concerne les saturations d'agglutinines, l'indication $+1/2$, signifie que, après saturation par le microbe occupant la même ligne horizontale, le sérum de la colonne verticale correspondante a conservé plus de la moitié de ses agglutinines pour les microbes appartenant à son type. Les indications $-1/8$, $-1/16$, $-1/32$, signifient qu'après saturation le sérum de la colonne correspondante possède moins de $1/8$, $1/16$, $1/32$ de ses agglutinines primitives. L'adsorption n'est considérée comme positive que lorsque il reste moins de $1/8$ des agglutinines. D'ailleurs, il est facile de se convaincre par l'examen des tableaux suivants que les résultats sont tout-à-fait tranchés et que, par exemple, on ne trouve pas une seule fois les agglutinines réduites au $1/4$ de leur valeur. Ou bien il en reste plus de la moitié, c'est-à-dire qu'en réalité elles n'ont pas été touchées, ou bien elles sont ramenées à moins de $1/8$ et le plus souvent à moins de $1/16$ de ce qu'elles étaient avant la saturation.

MICROBES DU TYPE I

MICROBES	AGGLUTINATION PAR LES SÉRUMS					VALEUR DES SÉRUMS SATURÉS				
	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
Américain.....	+12800		+6400	+6400		-1/16	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Desh.....	+3200	+800	-200	+400		-1/16	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Del.....	+300	+400	+400	-400	-100	-1/16	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Gall.....	-400	+400				-1/16	+1/2	+1/2	+1/2	
Pinar.....	+800	+400	+400	-400	-100	-1/16	+1/2	+1/2	+1/2	
Tix. I.....	+1600	+400	+400	-400	-200	-1/16	+1/2	+1/2	+1/2	
Tix. II.....	+3200	+3200	+1600	+400	-200	-1/32	+1/2	+1/2	+1/2	
Tix. III.....	+1600	+1600	+100	-400	-200	-1/16	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Toluz.....	+400	+800	-400	-400	-100	-1/16	+1/2	+1/2	+1/2	
Vandemeul. I..	+400	-400	-400	-400	-100	-1/16	+1/2	+1/2	+1/2	
id II..						-1/16	+1/2	+1/2	+1/2	
Verd.....	+800	-400	+400	-400	-100	-1/16	+1/2	+1/2	+1/2	
Vér., Louis I..	+400	-400	-400	-400	-100	-1/16	+1/2	+1/2	+1/2	
id II.....						-1/32	+1/2	+1/2	+1/2	
Vér., Robert I.	+400	-400	>400	-400	-100	-1/16	+1/2	+1/2	+1/2	
Vér., Robert II.						-1/16	+1/2	+1/2	+1/2	
Bouch.....	+400		+200		-200	-1/16	+1/2	+1/2	+1/2	
Port.....	+400		+200		-200	-1/16	+1/2	+1/2	+1/2	
Coch.....	+400		+200		-200	-1/16	+1/2	+1/2	+1/2	
Rolli.....	+400		-200		-200	-1/16	+1/2	+1/2	+1/2	

Béa.....	400	—	200	—	200	—	1/16
Pe.....	400	—	200	—	200	—	1/16
Bouillon.....	400	—	200	—	200	—	1/16
Thom, M. L....	400	—	200	—	200	—	1/16
Hugueni.....	Non	stable					1/16
Benoi.....	800						1/16
Cailla.....	400						1/16
Dupho.....	800						1/16
Dumont.....	400						1/16
Trévie.....	400						1/16
Navett.....	400						1/16
Charve.....	800	—	200	—	200	—	1/16
Baill.....	400	—	200	—	200	—	1/16
Perre.....	Non	stable					1/16
Dufour Odette..	400						1/16
Grume.....	400	—	200	—	200	—	1/16
Mazui.....	800						1/16
Nicol.....	400						1/16
Thive.....	400						1/16
Marth.....	400						1/16

MICROBES DU TYPE II.

MICROBES	AGGLUTINATION PAR LES SÉRUMS					VALEUR DES SÉRUMS SATURÉS				
	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
Amar.....	—400	>3200	—400	—400			—1/8	+1/2		
Betoul.....	—400	+200	—400	—400			—1/16	+1/2		
Braya.....	—400	>3200	—400	—400		+1/2	—1/16	+1/2	+1/2	+1/2
Dum. 4.....	—400	>3200	—400	—400			—1/16	+1/2		
Durand.....	—100	+6400				+1/2	—1/16	+1/2	+1/2	+1/2
Guill.....	—100	>3200	—400	—400			—1/16	+1/2		
Lech.....	—400	>800					—1/16	+1/2		
Verch. 93.....							—1/16	+1/2		

MICROBES DU TYPE III

MICROBES	AGGLUTINATION PAR LES SÉRUMS					VALEUR DES SÉRUMS SATURÉS				
	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
Bail.....	-400	>400	>3200	-400	-200	+1/2	+1/2	-1/4	+1/2	+1/2
Bard. I.....	-400	>400	>3200	-400	-200		+1/2	-1/16		
id II.....		-400	>1600				+1/2	-1/16		+1/2
Bret.....	-400	+800	>3200	-400	-200	+1/2		-1/16	+1/2	
Daou.....	-400							-1/16		
Dec. I.....	-400	-400	-400	-400	+200	+1/2		-1/16	+1/2	
id II.....	-400				-200		+1/2	-1/16		
Delzop. I....	-400	-400	>3200	-400			+1/2	-1/16		
id II.....	+100	+400	>3200	-400				-1/16		
Dul. g.....								-1/16		
Dul. f m.....					-200	+1/2		-1/16	+1/2	
Dupr. I.....	-400	-400	>3200	-400				-1/16		
id II.....							+1/2	-1/16	+1/2	
Durand P.....	-400	>400	>3200	-400			+1/2	-1/16		
For. I.....	-100	-50		+400		2	+1/2	-1/8	+1/2	
id II.....								-1/16		
Garc.....	-400	>400	>3200	-400	-100		+1/2	-1/16		
Guil. I.....	-400	-400	>3200	-400	-100			-1/16		
id II.....	-400	-400	+3200	-400				-1/16		
id III.....	-400	-400	>3200	-400				-1/16		

Lebl.,.....	-400	-400	>1600	-400	+1/2	+1/2	+1/2	-1/4	
Lebr. III.,.....	-400	-400	>400	-400	+1/2	+1/2	+1/2	-1/32	
Louch.,.....	-400	-400	-400	-400	+1/2	+1/2	+1/2	-1/16	+1/2
Marteau, II.,.....	-400	-400	>3200	-400	+1/2	+1/2	+1/2	-1/16	+1/2
Marqu.,.....	-400	-400	-400	-400	+1/2	+1/2	+1/2	-1/16	+1/2
Millou, I.,.....	-400	-400	+3200	-400	+1/2	+1/2	+1/2	-1/32	
id. II.,.....	-400	-400	>6400	-400	+1/2	+1/2	+1/2	-1/16	+1/2
Novic.,.....	-400	-400	>3200	-400				-1/32	
Par. I.,.....	-400	-400	>3200	-400				-1/32	
id. II.,.....	-400	-400	>400	-400				-1/16	+1/2
Porcher.,.....	-400	-400	-400	-400				-1/16	+1/2
Pégu, Paulette.	-400	-400	>3200	-400				-1/16	+1/2
Pégu, Marie I.,	-400	-400	>3200	-400				-1/16	+1/2
id. II.,.....	-400	-400	>3200	-400				-1/16	+1/2
Mme Roch. I.,	-100	-100	>400	-400				-1/16	
id. II.,.....	-400	-400	>3200	-400				-1/16	
Roch. Jean I.,...	-100	-100	>400	-400				-1/16	
id. II.,.....	-400	-400	>3200	-400				-1/16	
Renoua. P.,...	-400	-400	-400	-400				-1/32	+1/2
Rou.,.....	émulsion non stable	-400	-400	-400	+1/2	+1/2		-1/16	
Sobr. I.,.....	-100	-100	+800	-400				-1/16	
id. II.,.....	-400	-100	>3200	400				-1/16	
Tiss.,.....	-400	-100	-400	-400	+1/2	+1/2		-1/16	+1/2
Vouill. prot. I.,	-400	-100	+1600	-400				-1/32	
id. II.,.....	-400	-100	-400	-400				-1/16	+1/2
Vouill. poum. I	-400	-400	+1600	-400	+1/2	+1/2		-1/16	
id. II.,.....	-400	-400	+1600	-400				-1/16	
Vautar. I.,.....	-400	-400	+1600	-400	+1/2	+1/2		-1/16	+1/2
id. II.,.....	-400	-400	+1600	-400				-1/16	

Léon. pout. I	—400	—400	—400	>1600	+1/2	—1/16
id. II	—400	—400	—400	>1600	+1/2	—1/16
Marc. prot.	—400	—400	—400	>1600	+1/2	—1/16
Marc. pout.	—400	—400	—400	>1600		—1/16
Pacal. Joanny I	émulsion non stable					—1/16
id. II	émulsion non stable					—1/16
Pacal. Claud. I	émulsion non stable					—1/16
id. II	émulsion non stable					—1/16
Pacal. André. .	—400	—400	—400	+3200		—1/16
Pacal.	—400	—400	—400			—1/16
id. II.	émulsion non stable					—1/16
Pacal. Jean I. .	—400	—400	—400	+800		—1/16
id. II	émulsion non stable					—1/16
Pacal. Henry I	—400	—400	—400	+1600		—1/16
id. II	—400	—400	—400	+1600		—1/16
Pillof. I.	—400	—400	—400	>3200		—1/16
id. II.	—400	—400	—400			—1/16
id. III.	—400	—400	—400			—1/16
Porch. Adèle I.	—400	—400	—400	>3200		—1/16
id. II	—400	—400	—400	>3200		—1/16
Porch. Anton I	—400	—400	—400	>800		—1/16
id. II	—400	—400	—400	>800		—1/16
Réocre. I.	—400	—400	—400	>400		—1/16
id. II.	—400	—400	—400	>200		—1/16
Radi. I.	—400	—400	—400	>800		—1/16
id. II.	—400	—400	—400	+6400	+1/2	—1/16
Rolle. I.	émulsion non stable			>1600	+1/2	—1/16
id. II.	—400	—400	—400			—1/16
Sirbeaux.	—400	—400	—400			—1/16
Vie.	émulsion non stable					—1/16
Vereh. Franç ^{se} .	—400	—400	—400			—1/16

MICROBES ATYPIQUES

MICROBES	AGGLUTINATION PAR LES SÉRUMS					VALEUR DES SÉRUMS SATURÉS				
	I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
Alic.....	—400	—400	—400	—400	—200	+1/2			+1/2	
Ann.....	émulsion non stable					+1/2			+1/2	
Aubl. II.....	—400	—400	—400	—400	+200	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Bad.....	—400	—400	—400	—400	+200					
Barr. port.....										
Bégu. bis.....	—400	—400	—400	—400	—100	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Bouill. I.....	—400	—400	—400	—400	—100	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
id. II.....	—400	—400	—400	—400	—200	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Charv.....	—400	—400	—400	—400	—100	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Chauter. I.....	—400	—400	—400	—400	—100	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
id. II.....	émulsion non stable					+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Corréoz.....	—400	—4	—400	—400	+200	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Mme Carr. I.,..	—400	—4	—400	—400	+400	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Carr. Marg.....	—400	—4	—400	—400	+200	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Carpent.....	—400	—4	—400	—400		+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Couth. I.....	—400	—4	—400	—400		+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
id. II.....	—400	—4	—400	—400		+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
id. III.....	—400	—4	—400	—400						
id. III.....	—400	—4	—400	—400		+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Capit.....	—400	—4	—400	—400		+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2

Decarrie.....	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2
Dernone.....	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2
Démol. I.....	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2
id. II.....				+1/2	+1/2	
Dera. II.....	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2
Derick.....	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2
Duma. II.....	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2
Dupl.....	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2
Evangel. I.....	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2
Eparv.....	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2
Fleur.....	—100	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2
Foucar.....	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2
Gor. II.....	—400	—400	—800	+1/2	+1/2	+1/2
Goer. I.....	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2
id. II.....				+1/2	+1/2	
Guill. II.....	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2
Guyo. 45.....	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2
Hennar.....	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2
Houvie. II.....	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2
Joanan. I.....	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2
Journe. I.....	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2
id. II.....				+1/2	+1/2	
Lais.....	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2
Lazer.....	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2
Led.....	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2
Laur.....	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2
Ma.....	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2
Marti. I.....				+1/2	+1/2	+1/2

Mari. II.	—400	—400	—400	+200	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Mich.	—400	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Mestral.	—400	—400	—400	+400	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Micoul.	—400	—400	—400	+400	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Moïna.	—400	—400	—400	+200	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Nanj. I.	—400	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
id. II.	—400	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Paillass. Marie I	—400	—400	—400	+200	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
id. II	—400	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Pép.	—400	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Pompan. II ...	émulsion non stable	—400	—400	—200	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Reyn. I.	—400	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
id. II.	—400	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Rid.	—400	—400	—400	—100	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Rondel.	—400	—400	—400	+800	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Stiqu.	—400	—400	—400	—100	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Said ben.	—400	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Strottn.	—400	—400	—400	—200	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Seur.	—400	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Thivol.	—400	—400	—400	—100	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Tort.	—400	—400	—400	—200	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2
Ucel.	émulsion non stable	—400	—400	—400	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2	+1/2

En résumé, nos 282 bacilles diphtériques se répartissent de la façon suivante :

Type	I	40	souches
—	II	8	—
—	III	38	—
—	IV	76	—
—	V	51	—

Echantillons atypiques 69 souches.

Le nombre de bacilles appartenant à chacun de ces groupes n'a pas la prétention d'indiquer la fréquence absolue de tel ou tel type. Les microbes ayant été isolés par séries assez irrégulièrement réparties dans le temps, nous avons pu tomber à un moment où un type donné était passagèrement prédominant. La même remarque s'appliquera, plus loin, aux indications qui seront fournies sur la gravité des symptômes cliniques causés par nos bacilles.

Caractère particulier des différents types.

Morphologie. — Une seule remarque est à faire à ce point de vue. Alors que tous les autres types et la plus grande partie des bacilles atypiques comprennent des microbes longs ou moyens, toujours assez abondamment pourvus de granulations de Neisser, le type II est tout entier constitué par des microbes moyens ou courts, à granulations très rares, plus rares même que celles que l'on trouve dans un assez grand nombre de bacilles d'Hoffmann. Le contraste est

frappant, à ce point de vue, entre le type II et les autres microbes (1).

Parmi les bacilles atypiques, quelques-uns se rapprochent nettement du type II en ce qui concerne la brièveté de la forme et la pauvreté en granulations et ce sont justement des souches qui se rapprochent du même type II par le fait qu'elles fermentent ou épargnent les mêmes hydrates de carbone.

Virulence. — Aucune étude systématique n'a été faite pour mesurer exactement la virulence pour le cobaye des divers groupes de diphtériques. Dans chacun d'eux, il nous a semblé exister des échantillons très virulents, et d'autres qui le sont moins. Cependant, la virulence nous a paru un peu plus faible en moyenne dans le type II, dont trois souches ont exigé des doses de 3 cc. de culture en bouillon de 48 heures pour tuer le cobaye, et dont une autre souche n'a jamais donné que de l'œdème local (œdème empêché d'ailleurs par injection simultanée ou antérieure de sérum antidiphtérique).

Toxine. — Aucune étude systématique n'a été faite de la fonction toxigène de nos microbes. Le seul point que nous ayons étudié est celui de l'unicité ou de la pluralité des toxines diphtériques. Nous avons préparé en assez grande quantité de la toxine provenant du bacille Sirbeaux (type V) et nous avons immunisé avec elle la jument Bichette qui n'avait jamais reçu encore de toxine diphtérique. La toxine

(1) Nous adressons nos remerciements à notre ami, le docteur P. Dufourt, qui a bien voulu nous aider à vérifier ces faits,

en question tuait le cobaye à dose comprise entre $1/10$ et $1/30$ de cc.

La jument, saignée après deux mois d'immunisation, donne un sérum qui fut d'abord titré par la méthode d'Ehrlich en même temps qu'un sérum obtenu par injection au cheval Vulcain de toxine du bacille Américain Park-Williams n° 8, par conséquent du type I.

Au lieu de déterminer exactement la dose L + de la toxine employée (toxine du bacille Park-Williams n° 8), on injecta à tous les animaux une dose un peu supérieure à L +, capable d'amener la mort du cobaye en 90 heures après mélange avec 1, 1 unité antitoxique.

Voici les résultats de ce premier titrage :

I.	Unités	Le cobaye
Toxine Améric.	antitoxiques.	de 250 gr.
0 cc. 38	+ 0,9	meurt en moins de 60 h.
0 cc. 38	+ 1,0	meurt en moins de 60 h.
0 cc. 38	+ 1,1	meurt en 90 heures.
0 cc. 38	+ 1,2	survit.

II.	Sérum	Le cobaye
Toxine Améric.	Vulcain.	de 250 gr.
0 cc. 38	+ $1/200$ cc.	survit.
0 cc. 38	+ $1/300$ cc.	meurt en 110 heures.
0 cc. 38	+ $1/400$ cc.	meurt en 60 heures.

III.	Sérum	Le cobaye
Toxine Améric.	Bichette.	de 250 gr.
0 cc. 38	+ $1/10$ cc.	survit.
0 cc. 38	+ $1/15$ cc.	meurt en 120 heures.
0 cc. 38	+ $1/20$ cc.	meurt en 60 heures.

Le sérum Vulcain titre donc plus de 330 unités et moins de 360.

Le sérum Bichette plus de 16,5 et moins de 10.

Un nouveau titrage est alors fait avec les mêmes sérums, en employant comme toxine la toxine Sirbeaux. Comme elle trop faible pour qu'on puisse déterminer la dose L +, on injecte à tous les animaux 3 cc. de toxine mélangée au sérum, en déterminant quelle est la fraction d'unité dont le mélange avec ces 3 cc. amène la mort des cobayes en 96 h.

I. Toxine Sirbeaux.	Unités antitoxiques.	Le cobaye de 250 gr.
3 cc.	+ 0,35	meurt en 48 heures.
3 cc.	+ 0,40	» en 68 »
3 cc.	+ 0,43	» en 86 »
3 cc.	+ 0,46	» en 102 »
3 cc.	+ 0,50	survit.

II. Toxine Sirbeaux.	Sérum Vulcain.	Le cobaye de 250 gr.
3 cc.	+ 1/400 cc.	survit.
3 cc.	+ 1/500 cc.	»
3 cc.	+ 1/600 cc.	»
3 cc.	+ 1/700 cc.	meurt en 94 heures.
3 cc.	+ 1/800 cc.	meurt en 70 heures.

III. Toxine Sirbeaux.	Sérum Bichette.	Le cobaye de 250 gr.
3 cc.	+ 1/30 cc.	survit.
3 cc.	+ 1/35 cc.	»
3 cc.	+ 1/40 cc.	meurt en 98 heures.
3 cc.	+ 1/50 cc.	» en 60 »
3 cc.	+ 1/60 cc.	» en 48 »

Le protocole du nouveau titrage donne pour le sérum Vulcain plus de 301 et moins de 322 unités, pour le sérum Bichette plus de 17,2 et moins de 18,4 unités. Ces chiffres se rapprochent tellement des résultats du premier dosage, qu'il y a lieu d'admettre que des toxines produites par des microbes du type I et du type V sont neutralisées de la même façon par l'une ou l'autre des antitoxines correspondantes, et que, par conséquent, elles sont identiques.

Nous n'avons pas encore fait de nouvelles expériences avec les types II, III et IV.

Pathogénicité pour l'homme. — Une appréciation relative du degré de pathogénicité pour l'homme des différents types peut être tirée du pourcentage des porteurs sains, des malades atteints de diphtérie légère, moyenne, grave ou mortelle, fourni par les individus chez qui ont été isolés nos bacilles. Ce pourcentage est indiqué par le tableau suivant, qui donne aussi la proportion des paralysies ayant évolué soit vers la mort, soit vers la guérison.

<i>Type du microbe infectant</i>					
I	II	III	IV	V	Africains
<i>Total des sujets.</i>					
35	8	29	44	25	41
<i>Porteurs.</i>					
24	2	2	1	1	7
(68,5 %)	(25 %)	(6,8 %)	(2 %)	(4 %)	(15 %)
<i>Diphthéries légères.</i>					
3	1	3	3	5	6
(8,57 %)	(12 %)	(10,3 %)	(7 %)	(20 %)	(13 %)
<i>Diphthéries moyennes.</i>					
5	4	15	13	6	14
(14,28 %)	(50 %)	(51,7 %)	(29 %)	(24 %)	(31 %)
<i>Diphthéries graves.</i>					
2	0	5	13	3	11
(5,71 %)	(0 %)	(17,2)	(29 %)	(12 %)	(25 %)
<i>Diphthéries mortelles.</i>					
1	1	4	14	10	6
(2,85 %)	(12 %)	(17,7 %)	(31 %)	(40 %)	(13 %)
<i>Paralysie et mort.</i>					
1	0	0	4	3	1
(2,85 %)	(0 %)	(0 %)	(9 %)	(12 %)	(2 %)
<i>Paralysie et guérison.</i>					
1	0	3	4	2	3
(2,85 %)	(0 %)	(10,3 %)	(9 %)	(8 %)	(6 %)
<i>Total des paralysies.</i>					
2	0	3	8	5	4
(5,71 %)	(0 %)	(10,3 %)	(18 %)	(20 %)	(8 %)

Mais, là encore, il y a lieu de tenir compte que le grand nombre relatif de porteurs sains du groupe I, est dû au fait que nous avons eu l'occasion de faire la recherche de ces porteurs dans deux groupes d'enfants où s'étaient développées des épidémies dues à ce type.

De même, le grand nombre de diphtéries mortelles et de paralysies figurant au compte des types IV et V, peut s'expliquer parce qu'à un moment où ces types prédominaient parmi les malades de la Charité, nous avons fait des recherches sur la présence des bacilles dans le sang, le système nerveux et les organes des sujets morts de diphtérie, et nous nous sommes appliqué à isoler tout particulièrement les bacilles des malades qui présentaient des *paralysies*. Il y aurait lieu, pour être vraiment fixé sur le pouvoir pathogène de chaque type, d'isoler en série ininterrompue un très grand nombre de souches et de refaire un tableau analogue à celui que nous présentons.

Caractères cultureux. — Fermentation des hydrates de carbone. — Aucun caractère spécial n'est à signaler dans les cultures sur milieux usuels, si ce n'est la fermentation des hydrates de carbone, qui nous a permis d'individualiser de cette façon nouvelle deux des groupes déjà reconnus par leurs caractères immunologiques.

Nous ne voulons pas citer ici tous les nombreux travaux sur la différenciation des bacilles diphtériques et des pseudo-diphtériques par la fermentation des hydrates de carbone. Nous nous contenterons de

rappeler que, classiquement, le bacille diphtérique fermente le glucose, le maltose et le lévulose et ne fermente pas le saccharose. Cependant, Louis Martin avait vu des bacilles diphtériques fermenter ce dernier sucre.

Parmi les derniers travaux parus ceux de Hine, de Costa et Troisier confirment l'opinion classique. Hine admet que tout bacille diphtérique fermente le dextrose et la dextrine et est sans action sur le saccharose, et que tout bacille ayant ces caractères biochimiques est un diphtérique vrai. Pour Costa et Troisier, les diphtériques vrais fermentent le glucose, le maltose et non le saccharose.

Par contre, Graham Smith admet que le saccharose et le lactose ne sont pas toujours fermentés ; de même Morse pour la dextrine.

Kolmer et Moshage étudiant de nombreuses souches et un grand nombre de sucres, admettent que parmi les bacilles virulents, suivant qu'ils sont plus ou moins longs, plus ou moins granuleux, une proportion de 97 à 98 % fermente le glucose, 90 % le lévulose, 91 à 82 % le galactose, 51 à 41 % le maltose, 31 à 38 % le lactose, 40 à 7 % le saccharose.

Enfin des 26 souches de Cary, toutes donnent de l'acide en milieux glucosés, 15 en milieux maltosés, 10 en milieux dextrinés. Toutes donnent de l'acide en présence de glycérine, mais seulement 6 de façon abondante.

Par contre les trois seules souches qui fermentent le saccharose sont toutes très actives sur cet hydrate de carbone.

Nous avons essayé un assez grand nombre d'hydrates de carbone, soit sur milieux solides, soit sur milieux liquides et nous nous sommes arrêté, après quelques essais, au bouillon Martin, stérilisé seul à 110°, puis additionné de la solution concentrée de sucre (stérilisée à part par trois chauffages à 100°) en quantité telle que le milieu renferme 1,5 % de sucre. L'indicateur le plus employé fut le tournesol, stérilisé à part et ajouté en même temps que le sucre. Pour éliminer l'action réductrice de certains sucres sur le tournesol, et tout particulièrement du lactose, nous nous sommes servi d'un dérivé de la phtaléine, le Brom cresol purple, qui n'offre pas cet inconvénient. Signalons ici que, si l'on n'a pas soin d'employer du lactose, tout-à-fait purifié, on peut obtenir des résultats discordants.

Les tubes de bouillon sucré, additionné d'indicateur, étaient ensemencés avec une culture fraîche sur sérum coagulé de bacille diphtérique et mis à l'étuve pendant deux semaines. On les examinait tous les jours et l'on notait le moment du virage.

Les hydrates de carbone suivants n'ont jamais été fermentés : Mannite, dulcite, sorbite, xylose, mannose, lactose, amidon, inuline, glycogène. Le glucose et le lévulose le furent constamment et rapidement, le plus souvent en 24 ou 48 heures, le lévulose étant en général attaqué plus vite que le glucose. La glycérine, le galactose, le maltose, le saccharose et la dextrine fournirent des résultats différents suivant les types microbiens, résultats qui sont consignés dans les tableaux suivants.

Les chiffres indiquent au bout de combien de jours s'est effectué le virage de chaque milieu pour un sucre donné ; le chiffre 0 indique qu'il n'y a pas eu de virage.

Il est facile de voir que les types III, IV et V et la plus grande partie des microbes atypiques font fermenter la glycérine, le galactose, le maltose et la dextrine, et n'agissent pas sur le saccharose.

Au contraire, le type I ne fermente que le maltose et la dextrine ; le galactose, en général laissé intact, est fermenté très faiblement et seulement au bout de 14 jours par trois échantillons ; la glycérine ne donne pas de virage.

Le type II ne fait virer ni maltose, ni dextrine, ni glycérine ; le galactose est fermenté, plutôt plus activement que par les types 3, 4, 5 ; mais le saccharose est attaqué dans tous les cas et avec la plus grande énergie dès le premier jour, c'est-à-dire plus vite que le glucose elle-même.

Parmi les bacilles atypiques, le plus grand nombre se rapproche, au point de vue biochimique, des types III, IV et V. Cinq échantillons ont les mêmes caractères que le type II. Ils ont, d'ailleurs, aussi comme lui une forme courte et de très rares granulations. Quant à un très petit nombre d'autres, ils présentent des variations individuelles.

MICROBES DU TYPE I

	Glucose	Maltose	Dextrine	Galactose	Glycérine	Saccharose
Américain.....	2	2	2	0	0	0
Desh.....	2	3	2	14	0	0
Del.....	1	7	2	14	0	0
Gall. n b.....	2	1	2	0	0	0
Pinar.....	2	5	2	0	0	0
Tix. I.....	2	2	2	0	0	0
id. II.....	2	2	2	0	0	0
id. III.....	2	2	2	0	0	0
Toluz.....	2	4	2	14	0	0
Vandemel. I...	2	2	1	0	0	0
id. II.....	2	2	1	0	0	0
Verd. I.....	2	2	1	0	0	0
Vér. Louis I...	2	2	1	0	0	0
id. II.....	2	2	1	0	0	0
V. Robert I....	2	2	1	0	0	0
id. II.....	2	2	1	0	0	0

MICROBES DU TYPE II

	Glucose	Maltose	Dextrine	Galactose	Glycérine	Saccharose
Amar.....	2	0	0	2	0	1
Bétoul.....	2	0	0	2	0	1
Braya.....	2	0	0	3	0	1
Dum. IV.....	2	0	0	3	0	1
Durand.....	2	0	0	3	0	1
Guill.....	2	0	0	5	0	1
Verch. 93.....	2	0	0	6	0	1

MICROBES DU TYPE III

	Glucose	Maltose	Dextrine	Galactose	Glycérine	Saccharose
Bard. II.	1	2	2	3	6	0
Bret.	2	2	2	8		0
Dupr. I.	2	6	1		6	0
id. II.	2	2	1	6	6	0
Dec. I.	2	2	1	6	8	0
id. II.	2	2	2	6	6	0
Daou.	2	2	2	8		0
Delzop. I.	2	2	2	6	6	0
id. II.	2	2	2	8	6	0
Dul. g.	1	1	1	2	10	0
Dul. f m.	2	2	2	8		0
Durand P.	2	2	2	8	8	0
For. I.	2	2	3	6	6	0
id. II.	2	2	2	6	8	0
Jouffr. M A.	2	2	1			0
Jouffr. M L.	2	2	1	4	3	0
Garc.	2	1	1	8		0
Guil. II.	2	2	2		6	0
id. III.	2	2	1	8	6	0
Irsc. II.	2	2	2	4	6	0
Lebr. I.	2	2	1	6	8	0
Lièvr.	2	2	2		8	0
Lorn.	2	2	1	8	8	0
Nodet.	2	2	2	4	6	0
Seign.	2	2	2	6	6	0

MICROBES DU TYPE IV

	Glucose	Maltose	Dextrine	Galactose	Glycérine	Saccharose
Bat. I.....	2	5	2	6	3	0
id. II.....	2	2	3	8	3	0
Bégu. I.....	2	3	3	6	3	0
id. II.....	2	2	1	6	3	0
id. III.....	2	2	1	6	6	0
Benjamin.....	2	2	2	4	3	0
Bocq.....	2	2	2	6	6	
Boussek. I.....	2	2	2	8	3	0
id. II.....	2	2		6	2	0
Bours. L I.....	1	1	2		3	0
id. II.....	2	2	2			0
Bours. G.....	3	1	3	14	0	0
But. E I.....	2	1	2	6	4	0
id. II.....	1	1	2	7	3	0
id. IV.....	2	2	2	10	3	0
But. M.....	2	2	1	4	3	0
Caillo.....	2	2	2	4		0
Chantr. I.....	1	1	2	4	4	0
id. II.....	1	6	3	6	4	0
Dagan.....	2	7	2	4	4	0
Destéph. I.....	2	2	1	6	2	0
id. II.....	2	2	1	3	2	0
Durand P. bis.	2	1	2			
Farin.....	2	6	2	5	4	0
Ferl. II.....	2	2	2	10	4	0
id. III.....	2	2	2	8	3	0
Fill.....	2	2	3	6	6	0
Faussem.....	2	2	3	8	3	0
Franchel. I.....	2	1	2	14	6	0
id. II.....	2	2	3	6	5	0
id. III.....	2	4	3	8	3	0
Gavacel.....	2	4	3	5	6	0
Grimar.....	1	1	2	7	6	0
Hosd.....	2	2	2	6	3	
Lafav. I.....	2	5	2	6	3	0
id. II.....	2	2	1	6	3	0
Laurenc.....	2	2	1	4	6	0

MICROBES DU TYPE IV (suite)

	Glucose	Maltose	Dextrine	Galactose	Glycérine	Saccharose
Lefaur. poum. I	1	1	2	4	4	0
id. II.....	1	2	2	5	6	0
Lefaur. prot I.	1	3	2	6	8	0
id. II.....	1	4	2	4	4	0
Lefaur. sang I.	2	2	2	4	4	0
id. II.....	1	1	2	6	6	0
Lebl.....	2		3	6	4	0
Lebr. III.....	2	5	2	6	6	0
Louch.....	2	2		6	2	0
Martea.....	2	2	2	6	3	0
Marqu.....	2	5	1	4	3	0
Millou. I.....	2	1	2	6	3	0
id. II.....	2	2	3	6	2	0
Novic.....	2	2	2	8	6	0
Par. I.....	2	2	2	8	2	0
id. II.....	2	2	2	8	3	0
Porcher.....	2	1	2	7	6	0
Pégu. PI.....	2	2	2	6	2	0
Mme Roch.....	2	2	2	6	3	0
Roch. J I.....	2	2	2	6	6	0
id. II.....	2	2	2	10	6	0
Rou.....	2	2	2	8	6	0
Renoua. poum.	2	4	2	6	6	0
Sobr. I.....	2	2	2	4	6	0
id. II.....	2	7	2	6	3	0
Tiss.....	2			3	8	0
Veuil. prot I...	2	2	2	6	3	0
id. II.....	2	2		6	6	0
Veuil. poum. I.	2	1	2	6	3	0
Vautar. II.....	2	2	2	10	6	0

MICROBES DU TYPE V

	Glucose	Maltose	Dextrine	Galactose	Glycérine	Saccharose
Carr. I tr br...	1	1	2	3	8	0
Dupl. malade...	1	1	1	4		0
Durand P. I...	2	2	1		8	
id. II.....	2	2	1	6		0
Eclerc.....	2	2	6	1	6	0
Gent. sang....	1	1	1	2	8	0
Gent. poum...	2	2	6	1	6	0
Gor. I.....	1	1	1			0
Haila.....	1	1	1	7		
Jol. bulbe....	2	1	2	5	8	0
Jol. sang.....	2	2	1	6	6	0
Jag. I.....	2	2	2	6	6	0
id. II.....	2	2	1	6	6	0
id. III.....	2	2	1	6	6	0
Lelon. bulbe I.	2		1	4	6	0
id. II.....	2	2	1	6	8	0
Lelon. tr br I.	2		1	6	6	0
id. II.....	2		1	6		0
Lelon. poum. I.	2	2	1	6	6	0
id. II.....	2		1	6		0
Lelon. prot....	1	1	1	2	8	
Marc. prot....	1	1	1	5	8	0
Marc. poum...	2	2	1	6	8	0
Pacal. Joanny..	3	2		4		0
Pacal. Claud. I.	2	2	1	1	6	0
id. II.....	2	2	1	6	6	0
Pacal. André..	2	2	1	6	6	0
Pacal. I.....	2	2	1	5	6	
id. II.....	2	2	1	6	6	
Pacal. Jean I..	2	2	1	6	6	0
id. II.....	2	2	1	6	6	0
Pacal. Henri I.	2	2	1	6	6	0
Pilloi. III....	2	2	1	6	6	0
Porch. Adèle I.	2	2				0
id. II.....	2	2	2	6	6	0
Porch. Anton. I	2					
id. II.....	2	2	2	6	6	0
Réocre. I.....	2		1	4	8	0
id. II.....	2	2	1	6		0
Radi. I.....	2	2	1	4		0
id. II.....	2	2	1	6		0
Rolle. I.....	2		1	6		0
id. II.....	2	2	1	6	6	0
Sirbeaux.....	2	2	1	6	6	0
Vie.....	2	1	2	6	4	0
Verch. Franç..	2		1	6	8	0

MICROBES ATYPIQUES

	Glucose	Maltose	Dextrine	Galactose	Glycérine	Saccharose
Alic.....	3	2	1	10		0
Ann.....	1	1	1	2	6	0
Aubl.....	3	1	1	10		0
Bad.....	1	1		6	6	
Barr. p.....	2	1	1	4	6	0
Bégu. bis.....	2	1	1	3	6	
Bouil. I.....	2	7	1	14	4	0
id. II.....	1	1	1		4	0
Chanter. I....	3	2	3	10		0
id. II.....	4	2	3	14		0
Mme Carre....	1	3				0
Carr. Marg....	2	1	1	2	6	
Carpent.....	6	2	4	14		0
Couth.....	3	5				0
Capit.....	3	4			10	0
Décarrie.....	3	1	3	14		
Dernone.....	2	1	1	4		0
Démol. I.....	1	1	1			0
id. II.....	2	4	1	4		0
Dera. II.....	3	2	1	3		0
Dupl.....	1	1	1	14	6	0
Evangél.....	2	1	1	6		0
Fleur.....	2	1	1			1
Foucar.....	1	1	1	7		
Gor. II.....	1	1	1	4	8	0
Goeur. I.....	3	2	1	5		0
id. II.....	3	3	3	10		0
Hennar.....	2	1	1	3	6	
Houvie. II....	2	1	1	5	8	1
Joanan.....	3	4	1	2		0
Journ. I.....	4	3	1			0
id. II.....	4	3		6		0
Lazer.....	2		1	6	6	0
Led.....	2	1	1			1
Laur. II.....	2	1	1	5	8	1
Ma.....	2	1	2		6	0
Marti. I.....	3	7	1	10		0
id. II.....	4	2		14		0
Mich.....	2	1	1	2		0
Mestral.....	2	1	1	4		0

MICROBES ATYPIQUES (suite)

	Glucose	Maltose	Dextrine	Galactose	Glycérine	Saccharose
Moina	2	3	1	2	6	0
Nanj. I.....	2	1	2	7		
id. II.....	2	1	1	10	8	0
Paillass. M. I ..	2	2	2			0
id. II	3	2	2	10		0
Reyn.....	2	1		4		0
Rondel	2			6		0
Saïd-ben.....	1	1	1	6		0
Stiqu.....	2	1	1	5		0
Strotn	1	1	1	5	6	0
Thivet.....	2	1	1	3	8	0
Ucelli.....	1	1	1	2	8	0
Corréoz.....	2	0	0	3	0	1
Duma. II.....	2	0	0	2	0	1
Éparv. I.....	2	0	0	3	0	1
Rid.....	2	0	0	2	0	1
Seurr.....	2	0	0	6	0	1
Guill. II.....	1	1	2	2	0	1
Derickè.....	2	1	1	3		0
Pompan.....	2		1	0	6	0
Pép.....	2	0	4	2	0	0
Charv	1	0	1	4	6	0
Tort.....	1	0	0	0	0	0

CONSTANCE DU TYPE CHEZ LE MÊME MALADE ET AU COURS DES ÉPIDÉMIES

Un autre phénomène vient encore confirmer l'existence des types de bacilles diphtériques, c'est la constance du même type parmi les souches microbiennes recueillies à différents moments de la maladie d'un même individu ou au cours d'une même épidémie localisée.

Il ne nous a pas été possible, pour des raisons matérielles, de faire des enquêtes épidémiologiques très étendues ; mais, dans un certain nombre de cas, nous avons pu obtenir des faits significatifs.

I. — Épidémies familiales.

Lors d'une épidémie familiale, nous avons toujours vu les bacilles être du même type dans une famille donnée.

Il en fut ainsi dans :

Cinq familles, pour deux frères ou sœurs, (Ver. Louis et Robert, type I, Pég. Paulette et Marie, type IV ; But. Emma et Marie, type IV ; Bours. Lucie et Georges, type IV ; Jouffr. M. A. et M. L., type III ; *une famille pour le père et 5 fils* : Pacal. père, André, Claudius, Henry, Jean, Joanny, type V).

Une famille pour la mère et 4 enfants : Madame X, Cécile, Simonne, Philippe et Jean-Louis, type III.

Une famille pour la mère et le fils, Madame Roche et Jean Roche, type IV.

Une famille pour la tante et la nièce, Bousse. et Hosd. type IV.

Dans la seule observation suivante, les bacilles isolés dans une même famille, ne furent pas tous du même type. Les enfants Porch. Adèle et Antonin et leur cousine Eclerc., contractent une diphtérie typique à peu près en même temps et on isole, chez eux, des bacilles du type V.

Leur frère aîné, porteur de germes, (le type n'en a pas été déterminé à ce moment) est hospitalisé six semaines dans un service de diphtériques. Au bout de ce temps, il contracte une diphtérie et on isole chez lui, des bacilles du type IV.

Il est probable que ces bacilles ont infecté le sujet pendant le séjour à l'hôpital et il y a lieu de se demander si l'enfant ne présentait pas en même temps qu'une réceptivité pour le type IV, une immunité pour le type V.

D'autres fois, par contre, le même type de bacilles reste assez longtemps dans une famille avant d'y causer de nouvelles atteintes. Ainsi l'enfant But. Emma, est atteinte de diphtérie, le 9 octobre. On isole alors deux souches du type IV. L'enfant cliniquement guérie, mais porteuse de germes, est emmenée de l'hôpital par ses parents, malgré l'avis médical. Le 10 décembre, sa sœur Marie-Louise est atteinte à son tour de diphtérie et on isole à ce moment, chez les deux sœurs des bacilles du même type IV.

II. — Épidémies scolaires, hospitalières ou urbaines

L'enfant Dul., simple porteuse de germes depuis le 8 mars, contracte une angine le 1^{er} avril, dont les fausses membranes, très tenaces, persistent jusqu'au 6 avril. Ce jour-là, on isole de la gorge un bacille du même type III que la souche isolée le 8 mars. Sa camarade Lorny, qui était restée en contact avec elle tout le mois de mars, donne en culture encore un bacille du type III.

Dans un autre hôpital, en quelques semaines, une série de cas intérieurs affectent les deux religieuses Novic. et Faussem., et les trois enfants Bat., Cun. et Pari. ; chez tous se retrouvent des bacilles du type IV.

Au cours d'une épidémie survenue dans une formation sanitaire, recevant des enfants rapatriés du Nord de la France, les bacilles isolés chez les trois malades Pinar., Ver. Louis et Verd. et les 2 porteurs Ver. Robert et Vandemeul., appartiennent au type I.

L'épidémie scolaire qui nous fournit le plus grand nombre de cas est celle que nous avons pu suivre grâce à l'obligeance et avec la collaboration de notre ami le docteur Guérin. Dans une école contenant des externes et des pensionnaires, apparaissent quatre cas de diphtérie. Immédiatement, élèves et personnel furent examinés, et l'on trouva sur 125 personnes, 45 porteurs de bacilles à morphologie diphtérique ; chez 29, les bacilles furent

isolés à l'état pur ; 7 souches furent reconnues pseudo-diphtériques et 22 diphtériques vrais. Ces derniers furent tous classés par l'agglutination, ou par la saturation des agglutinines, dans le type I.

En dehors de ces épidémies où les malades avaient eu des points de contact certains, il eut été intéressant de faire des enquêtes dans des épidémies plus étendues, englobant une ville ou une région. Nous n'avons pu le faire à Lyon, ville trop grande, où la diphtérie est endémique et où le contagé est d'origines trop diverses. Cependant, le type II, très rare puisqu'il ne comporte que 8 échantillons, a été observé à la Charité de Lyon 4 fois en l'espace de moins d'un mois (Am., Dum. VI, Durand et Lech.) ; cela montre à un moment une fréquence relativement grande de ce type, qui n'a plus été rencontré depuis, que de loin en loin.

Nous devons, d'autre part, à notre ami le Dr P. Dufourt, 8 souches de bacilles diphtériques isolées, à Strasbourg, en l'espace de trois semaines chez 7 personnes faisant partie de 3 familles.

Toutes appartiennent au type III, (Madame X, Jean-Louis, nez, Jean-Louis, gorge, Simone, Philippe, Cécile, Brio., Terroi.).

L'unicité du type, dans une épidémie, nous permet de comprendre les conclusions de Langer, qui, étudiant le pouvoir agglutinogène et la capacité d'adsorption des agglutinines de bacilles diphtériques isolés au cours d'une même épidémie arrivait à la conclusion que tous les bacilles forment un groupe homogène au point de vue sérologique.

Chez un assez grand nombre de malades, différentes souches isolées à une, deux ou trois semaines de distance, se sont montrées du même type. Cependant, Lebr.. donne deux souches appartenant au type III au début de sa maladie et une souche appartenant au type IV, trois semaines après. Le cas de Lebr.. et aussi celui de Porch.. paraissent assez rares pour les considérer comme des exceptions et les mettre sur le compte d'une contamination secondaire. Ils n'infirmant pas, à ses yeux, la règle générale de la constance du même type chez le même malade, ou dans un foyer épidémique localisé.

Naturellement, des atteintes successives de diphtérie chez le même individu peuvent être causées par des bacilles de types différents; ainsi Bégu. I, II, III, isolés au cours d'une première diphtérie, sont du type IV; Bégu. bis, au cours d'une seconde diphtérie, est atypique. Durand P. appartient au type III; Durand P. bis, au type IV; et Durand P. ter, au cours d'une troisième atteinte, au type V.

RELATIONS SÉROLOGIQUES DES BACILLES DIPHTÉROÏDES AVEC LES BACILLES DIPHTÉRIQUES

Ce chapitre sera court.

Nous avons eu à notre disposition 37 bacilles diphtéroïdes répondant au type du bacille d'Hoffmann et 14 au type de *Corynebacterium cutis* com-

mune, deux autres ont été isolés de conjonctives et 16 autres de pus d'urétrites aiguës ou chroniques.

Aucun d'eux n'a été agglutiné à 1/400 par un de nos sérums de chevaux (agglutinant à 1/6400 le bacille homologue).

Aucun n'a été capable d'absorber même la moitié des agglutinines des mêmes sérums.

CHAPITRE IV

Valeur thérapeutique du Sérum antimicrobien

Nous avons essayé la valeur thérapeutique, chez l'homme, du sérum antimicrobien dans le service des diphtéries de la Charité de Lyon, au cours d'une période s'étendant d'avril 1918 à fin décembre 1919. Le docteur Levrat, le docteur Péhu et le Professeur Mouriquand ont bien voulu s'intéresser à nos recherches, nous permettre de les effectuer dans leur service pendant que nous avions l'honneur d'être leur interne et de les continuer après notre sortie du service.

Ne pouvant songer à utiliser chez l'homme un sérum seulement antimicrobien et non antitoxique, nous nous sommes servi de sérums possédant ces deux propriétés et nous avons comparé leur action

thérapeutique à celle de sérums simplement antitoxiques administrés dans les mêmes conditions. Ces éléments de comparaison étaient, l'un du sérum de l'Institut Pasteur de Paris, étalon tout naturel, et l'autre du sérum antitoxique préparé par nous à l'Institut Bactériologique de Lyon par les méthodes classiques. Pour simplifier le langage, nous appellerons sérum mixte, le sérum à la fois antitoxique et antimicrobien et nous désignerons, par les lettres P, L, M, les sérums antitoxiques de l'Institut Pasteur de Paris, de l'Institut Bactériologique de Lyon et le sérum mixte.

Le sérum P. était employé tel qu'il est fourni à la pharmacie de la Charité; le sérum L titrait au moins 250 unités antitoxiques au centimètre cube; le sérum M n'était employé que lorsqu'il titrait environ 250 unités et qu'il agglutinait un des bacilles types à 1/6400. Du mois d'avril à fin juillet 1918, nous avons employé comme sérum M uniquement un sérum correspondant au type I à la fois comme toxine et comme bacille; nous le désignerons sous le nom de sérum mixte monovalent Am. Dans la suite, nous avons employé un mélange de sérums correspondant tous à la toxine Am. et chacun à un des microbes des types I, II, III, IV. Le mélange ainsi obtenu a constitué notre sérum mixte polyvalent, utilisé d'août 1918 à décembre 1919. Ce sérum polyvalent ne contenait aucune agglutinine pour le type V, ni pour les bacilles atypiques et les agglutinines d'un type donné y étaient diluées au 1/4 par le mélange de sérums hétérologues. Il eût été certaine-

ment préférable d'employer un sérum encore plus complet. Des raisons matérielles nous en ont empêché.

Pour éliminer autant que possible tout coefficient personnel dans le choix de tel ou tel sérum pour un malade, la désignation du sérum était faite par l'ordre d'entrée des patients : le premier admis à l'hôpital recevant du sérum P, le second du sérum L, le troisième du sérum P, et ainsi de suite. Pour assurer l'automatisme et la régularité de cette désignation, la consigne mnémotechnique avait été donnée à la Sœur Cheftaine du service de suivre l'ordre P, L, M.

Les doses injectées ont été les doses massives en usage à la Charité, c'est-à-dire 80 à 100 cc. par jour chez les malades au-dessus de 2 à 3 ans, un peu plus dans les formes graves, et cela jusqu'à disparition des fausses membranes. Les voies utilisées étaient la voie intra-musculaire, quelquefois sous-cutanée ; dans des cas très graves, on employa avec avantage les injections intra-veineuses combinées aux autres. La dose totale moyenne de sérum fut d'environ 200 à 300 cc. par malade ; mais des doses de 500 à 600 cc. ne furent pas rares.

Pour tout ce qui ne concerne pas la variété du sérum employé, les malades étaient naturellement soumis aux mêmes conditions hygiéniques et thérapeutiques.

Pendant presque toute la durée de nos observations, et tout particulièrement d'avril à octobre 1918, nous nous sommes trouvé en présence d'une épidé-

mie très grave avec un très grand nombre de petits malades dont la plupart arrivaient en très mauvais état, souvent atteints depuis plusieurs jours et n'ayant encore reçu aucun soin, quelques-uns évacués du nord de la France, soit directement, soit après un séjour plus ou moins long en Belgique et en Allemagne et portant les traces visibles des souffrances qu'ils avaient endurées.

Aussi bien parmi ces petits réfugiés que parmi les malades autochtones ont sévi rougeoles, scarlatines, grippez, broncho-pneumonies. Ces maladies ont contribué pour une part d'autant plus grande à aggraver la mortalité, que l'encombrement du service rendait difficile d'appliquer les mesures d'isolement individuel qui eussent pu être efficaces.

Pour juger de la valeur des différents sérums, nous défiant de tout ce qui pouvait être impression personnelle, nous avons envisagé les points de vue suivants, faciles à mettre en chiffres indiscutables : Mortalité brute, mortalité réduite en défalquant les morts survenues dans les 48 premières heures d'hospitalisation, fréquence de certains facteurs de gravité de la maladie tels que croup, troubles cardiaques accentués, infections associées, nombre de paralysies survenues malgré le traitement sérique, durée et extension de ces paralysies, durée du séjour des malades dans le service.

Dans les statistiques qui vont suivre, nous envisagerons souvent séparément les chiffres portant sur toute la durée de nos observations et ceux qui ne portent que sur la période du 1^{er} août 1918 à fin

décembre 1919, Dans la première période, nous pourrions comparer l'action du sérum mixte monovalent, et dans la seconde celle du sérum mixte polyvalent avec celle des sérums antitoxiques. Il est nécessaire de comparer les sérums mixtes monovalents ou polyvalents seulement avec les sérums antitoxiques employés pendant la même période, et non avec la statistique globale des sérums antitoxiques, car l'épidémie dans son ensemble fut beaucoup plus grave au début de 1918 que fin 1918 et au cours de 1919.

Nous aurions désiré faire entrer en ligne de compte dans notre statistique le temps qui s'était écoulé depuis le début de la maladie jusqu'au début du traitement sérique. Nous n'avons pu le faire, les observations que nous avons à notre disposition, dont beaucoup prises à un moment où le personnel hospitalier était réduit en nombre et surmené, ne contenant pas ces indications pour tous les malades.

Nous croyons, d'ailleurs, que, sur une statistique portant sur 744 malades, il y a de grandes chances pour que le temps moyen écoulé avant le traitement sérique soit le même pour les trois séries de patients. Cette présomption se justifie si l'on examine, dans les statistiques qui vont suivre, la fréquence dans chaque série des phénomènes non conditionnés par le traitement sérique. Nous voyons, par exemple, les nombres de décès dans les 48 premières heures de l'hospitalisation être respectivement de 13, 14, 13 ; les nombres de décès dus à des complications non causées par la diphtérie, de 12, 13, 13 ; les nombres

de croup à l'entrée 35, 40, 38, soit un pourcentage de 14,1 %, 15,5 %, 15,4 % pour chaque série. Nous avons donc quelque raison de penser que le facteur hasard disparaît dans le nombre des observations.

MORTALITÉ BRUTE. — En comptant tous les décès, même ceux qui sont survenus une ou deux heures après la première injection, nous obtenons les chiffres suivants pour l'ensemble de nos observations :

Sérum P : 50 décès pour 248 malades, soit 20,82 %.

Sérum L : 47 — 257 — 18,28 %.

Sérum M : 43 — 246 — 17,47 %.

Si nous envisageons la période où fût employé le sérum polyvalent et où l'épidémie fût, dans son ensemble, moins grave, nous trouvons :

Sérum P : 28 décès pour 158 malades, soit 17,7 %.

Sérum L : 27 — 165 — 16,3 %.

Sérum M : 25 — 167 — 14,9 %.

MORTALITÉ RÉDUITE. — Ces chiffres s'abaissent aux suivants, quand on défalque les malades décédés moins de 48 heures après l'entrée et chez qui l'on peut admettre que le sérum n'a pas eu le temps d'agir. L'ensemble des observations donne alors :

Sérum P : 37 décès pour 235 malades, soit 15,7 %.

Sérum L : 33 — 243 — 13,6 %.

Sérum M : 30 — 233 — 12,8 %.

Dans la seconde période, on ne trouve plus que :

Sérum P : 20 décès pour 151 malades, soit 13,2 %.

Sérum L : 18 — 156 — 11,5 %.

Sérum M : 17 — 161 — 10,5 %.

Dans la mortalité réduite figurent aussi bien les

décès par intoxication diphtérique ou par complications dues nettement à la diphtérie, sinon à son bacille (broncho-pneumonie, mastoïdite, etc.), que ceux de malades atteints de diphtérie associée à d'autres affections : grippe, scarlatine, rougeole. Un certain nombre d'entre eux avaient même à peu près cliniquement guéri leur diphtérie, quand survint une rougeole, puis une broncho-pneumonie mortelle, quand se développa une pneumonie ou une granulie fatales. Ces décès, où la part de responsabilité de la diphtérie, et par conséquent du sérum, est bien faible, grossissent le pourcentage obituaire, mais d'une façon sensiblement égale pour les trois séries.

Sérum P : 12 morts par maladies associées, soit 5,1 %.

Sérum L : 13 morts par maladies associées, soit 5,4 %.

Sérum M : 13 morts par maladies associées, soit 5,5 %.

Cela dans l'ensemble de la statistique.

Dans la deuxième période, on ne trouve plus que :

Sérum P : 3 morts par maladies associées, soit 1,9 %.

Sérum L : 3 morts par maladies associées, soit 1,9 %.

Sérum M : 4 morts par maladies associées, soit 2,4 %.

Si l'on envisage maintenant les chiffres de décès dûs seulement à la diphtérie ou à ses complications habituelles, abstraction faite des décès dans les 48 premières heures, on compte, d'avril 1918 à décembre 1919 :

Sérum P : 25 décès pour 235 malades, soit 10,5 %.

Sérum L : 20 — 243 — 8,27 %.

Sérum M : 17 — 233 — 7,37 %.

et d'août 1918 à décembre 1919 :

Sérum P : 17 décès pour 151 malades, soit 11,2 %.

Sérum L : 15 — 156 — 9,6 %.

Sérum M : 13 — 161 — 8 %.

FRÉQUENCE DU CROUP. — Le croup, quand il s'est présenté, existait chez tous nos malades au moment de l'entrée, qu'il fût primitif ou secondaire, et la dyspnée laryngée ne s'est que bien rarement aggravée dans les jours qui ont suivi l'admission. Le sérum P, sur 35 cas de croup (14,1 % du nombre des malades) donne 60 % de guérisons (21 cas) ; trois fois seulement les symptômes ont augmenté d'intensité après l'entrée. Le sérum L, sur 40 cas (15,5 % des malades) donne également 60 % de guérisons (24 malades) avec 4 cas légèrement aggravés au cours des premiers jours. Le sérum M, comprend 38 croups (15,4 %) avec 25 guérisons (63,2 %) et une aggravation respiratoire passagère.

Il n'y a, naturellement, aucune différence notable dans la fréquence des croups, il n'y en a pas davantage dans la guérison. Peut-être le sérum M empêche-t-il mieux l'extension des fausses membranes laryngées.

TROUBLES CARDIAQUES. — Les troubles cardiaques dont nous avons tenu compte sont ceux qui offrent quelque degré de gravité : tachycardie marquée, arythmie, bradycardie, rythme couplé, état syncopal, palpitations intenses, angoisse précor-

diale. Les légères irrégularités ou l'accélération passagère du pouls, fréquentes chez l'enfant, et qui n'offrent aucun élément de pronostic, ont été écartées.

Les troubles cardiaques ont été notés avec la fréquence suivante :

Sérum P : 28 cas, soit chez 11,2 % des malades.

Sérum L : 26 — 10,1 % —

Sérum M : 18 — 7,3 % —

Il y a donc action préventive du sérum M vis-à-vis des troubles cardiaques. A la vérité cette action préventive porte beaucoup plus sur les troubles cardiaques relativement légers que sur les cas graves, car il y a moins de différence entre les trois séries si l'on envisage les troubles cardiaques mortels que si l'on considère ceux qui ont guéri.

La statistique reste cependant favorable au sérum M même pour les cas mortels :

Sérum P : 18 guérisons (8,4 % du total des malades) 10 morts (4 % du total).

Sérum L : 18 guérisons (7 % du total des malades) 8 morts (3,1 % du total).

Sérum M : 11 guérisons (4,4 % du total des malades) 7 morts (2,8 % du total).

FRÉQUENCE DES PARALYSIES DIPHTÉRIQUES. — Nous ne tiendrons compte, dans cette statistique ni des malades présentant une paralysie diphtérique avant tout traitement dans le service, ni de ceux, d'ailleurs très rares, où la paralysie se montra moins de quarante-huit heures après la première injection.

D'autre part, nous séparerons les paralysies suivies

de guérison des paralysies suivies de mort, étant bien entendu que le terme guérison s'applique non seulement à la paralysie mais au malade lui-même, et que celui de mort ne préjuge pas des rapports qu'il peut y avoir eu entre la paralysie et le décès.

Dans ces conditions, nous constatons :

27 paralysies, dont 17 avec guérison et 10 avec mort avec le sérum P.

27 paralysies, dont 20 avec guérison et 7 avec mort avec le sérum L.

11 paralysies dont 9 avec guérison et 2 avec mort avec le sérum M.

Pour ce dernier sérum, on trouve cinq paralysies dont quatre avec guérison et une avec mort, pendant la période où était en usage le sérum mixte monovalent Am., et six paralysies dont cinq avec guérison et une avec mort pendant la période où l'on employa le sérum mixte polyvalent. En réalité même, ce dernier cas de mort n'est pas survenu dans le service, mais au domicile de l'enfant, emmené par ses parents malgré l'avis du chef de service. D'autre part, une des cinq paralysies avec guérison s'est montrée chez une petite malade, chez qui, le sérum mixte polyvalent manquant momentanément, on fit d'abord du sérum mixte monovalent, et plus tard, soit seulement trois jours avant l'apparition de la paralysie, du sérum polyvalent.

Les chiffres ci-dessus doivent être transformés en pourcentage en tenant compte du nombre des malades. On trouve alors :

	Total des paralysies	Guérisons	Morts
<i>Sérum P</i> :	11,06 %	6,96 %	4,10 %
<i>Sérum L</i> :	10,50 %	7,75 %	2,75 %
<i>Sérum M</i> au total :	4,54 %	3,71 %	0,83 %
<i>Sérum M</i> monovalent :	6,17 %	4,94 %	1,23 %
<i>Sérum M</i> polyvalent :	3,75 %	3,13 %	0,62 %

EXTENSION ET DURÉE DES PARALYSIES. —

D'autre part, on peut tenir compte de la durée des paralysies, lorsque la mort n'est pas venue les terminer, et de leur extension.

Les 17 paralysies avec guérison chez les malades traités par le sérum P ont duré 506 jours, soit une moyenne de 29 j. 8. Les 20 paralysies avec guérison correspondant au sérum L ont duré 505 jours, soit 25 j. 25 en moyenne.

Les 9 paralysies avec guérison par sérum mixte ont duré 172 jours, soit 19 j. 1, le sérum monovalent ayant à son actif 4 paralysies avec 94 jours, soit 23 j. 5 et le sérum polyvalent 5 avec 78 jours, soit 15 j. 6.

Avec le sérum P le voile fut atteint 27 fois, dont une fois dans une seule de ses moitiés, l'accommodation 5 fois, le larynx ou l'œsophage 3 fois, les membres inférieurs 7 fois. Avec le sérum L le voile fut atteint 27 fois, l'accommodation 2 fois, le larynx ou l'œsophage 3 fois, les membres inférieurs 6 fois. Avec le sérum mixte le voile fut atteint 11 fois, dont deux pour une moitié seulement, l'accommodation 1 fois, les membres inférieurs 1 fois.

Il apparaît donc avec la plus grande netteté que

le sérum mixte et tout particulièrement le sérum polyvalent jouit d'un pouvoir préventif très réel contre les paralysies diphtériques et que quand il n'a pu les prévenir, il les rend moins durablés et limite leur extension.

En ce qui concerne sa valeur curative sur les paralysies établies avant toute sérothérapie, la question est difficile à résoudre. L'évolution et la durée des paralysies laissées à elles-mêmes, aussi bien que traitées par les divers médicaments en usage, sont si variables qu'il faudrait avoir observé un nombre de cas beaucoup plus grand que nous ne l'avons fait pour en tirer une opinion ferme.

DURÉE DU SÉJOUR DES MALADES. — Les malades séjournaient dans le service jusqu'à guérison complète et disparition des germes dans le nez et le pharynx. En réalité, les bacilles ont persisté beaucoup moins longtemps que ne l'indiquent les temps de séjour de cette statistique : les malades ne voyaient s'ouvrir les portes du service qu'après deux cultures négatives successives aussi bien avec les sécrétions nasales que pharyngées, et comme il n'était guère possible matériellement de faire des cultures pour chaque malade que tous les six ou huit jours, on conçoit que tous les sujets ont séjourné dans le service au moins une semaine et parfois deux après le moment où ils étaient redevenus non contagieux. Un assez grand nombre firent même des séjours très prolongés (plusieurs mois) comme porteurs de germes, alors que chez plusieurs d'entre eux, les bacilles persistants furent reconnus dans la suite être des pseudo-diphtériques.

Ces réserves faites, la durée moyenne du séjour des malades fut, en jours :

36	pour le sérum P,
35	— L,
32	— M,

dont 36 pour le sérum mixte monovalent et 29 pour le sérum mixte polyvalent.

Le tableau ci-après résume les principaux résultats de notre statistique.

	P	L	M total	M Monovalent	M Polyvalent
Mortalité brute					
totale	20,12 %	48,28 %	17,47 %		
1 ^{re} période	24,4 %	24,2 %		22,7 %	
2 ^e —	17,7 %	16,3 %			14,9 %
Mortalité réduite					
totale	15,72 %	13,62 %	12,87 %		
1 ^{re} période..	20 %	17,1 %		18 %	
2 ^e — ..	13,2 %	11,5 %			10,5 %

Morts par diphtérie ou complications diphtériques.

Statistique totale	10,5 %	8,2 %	7,3 %		
1 ^{re} période	9,5 %	5,7 %		5,5 %	
2 ^e période	11,2 %	9,6 %			8 %

Morts par maladies associées.

Statistique totale	5,1 %	5,4 %	5,5 %		
1 ^{re} période	10,5 %	11,4 %		12,57 %	
2 ^e période	1,9 %	1,9 %			2,4 %
Troubles cardiaques	11,2 %	10,1 %	7,3 %		
Troubles cardiaques avec guérison	8,4 %	7 %	4,4 %		
Troubles cardiaques avec mort	4 %	3,1 %	2,8 %		
Nombre de paralysies	11,06 %	10,50 %	4,54 %	6,17 %	3,75 %

Paralysies suivies de guérison	6,96 %	7,75 %	3,71 %	4,93 %	3,13 %
Paralysies suivies de mort...	4,10 %	2,75 %	0,88 %	1,23 %	0,62 %
<i>Durée des paralysies suivies de guérison ..</i>	29,8 j.	25,25 j.	19 j.	23,5 j.	15,6 j.
<i>Séjour du malade à l'hôpital</i>	36 j.	35 j.	32 j.	36 j.	29 j.

Ce tableau met en évidence d'une façon générale la gravité plus grande de l'épidémie pendant la première période, gravité due surtout aux affections associées à la diphtérie. Il montre aussi, de façon très nette, la supériorité des résultats obtenus avec le sérum mixte en ce qui concerne la mortalité brute, la mortalité réduite, la mortalité par diphtérie ou complications diphtériques et la prévention des troubles cardiaques. Pour toutes ces catégories le sérum polyvalent n'est pas très supérieur au sérum monovalent.

Pour les paralysies, la différence entre sérums antitoxiques et sérum mixte s'affirme encore plus grande. Mais ici éclate la supériorité du sérum polyvalent. Le sérum antimicrobien a donc un pouvoir préventif manifeste sur les paralysies diphtériques et cela d'autant mieux qu'on s'adresse à un sérum polyvalent. De plus, il agit sur la gravité et sur la durée de ces paralysies quand elles se sont manifestées malgré la sérothérapie antimicrobienne, action attestée par la diminution du pourcentage des paralysies suivies de mort et par le raccourcissement de la durée des paralysies suivies de guérison.

Le tableau ci-dessus permet de voir que les chiffres fournis par le sérum L sont souvent intermédiaires entre ceux du sérum M et du sérum P. Cela ne doit être considéré en aucune manière comme l'indice d'une supériorité de l'antitoxine lyonnaise sur la parisienne et la comparaison doit porter entre les chiffres de la série P et de la série M, et non entre ceux des séries P et L. En effet, une grande partie des sérums lyonnais employés comme antitoxiques surtout dans la première période d'avril à août 1918, étaient des sérums de chevaux immunisés par la toxine Am., mais qui avaient subi un début d'immunisation par des bacilles diphtériques. Leur sérum encore insuffisamment agglutinant avait été compté uniquement comme antitoxique. En réalité, le sérum L est plutôt un sérum mixte mais à pouvoir antimicrobien assez faible.

ACCIDENTS SÉRIQUES. — Louis Martin avait signalé que son sérum antimicrobien employé en injections donnait plus fréquemment des accidents sériques. Tout au début de l'emploi de nos sérums antimicrobiens, alors qu'ils étaient utilisés très peu de temps après la saignée, nous avons en effet vu quelques éruptions intenses et plus prolongées qu'avec les autres sérums. Mais, dans la suite, un certain stock de sérum ayant été obtenu et ayant permis de ne faire les injections aux malades que plusieurs mois après la saignée des chevaux, nous n'avons plus observé aucune différence dans la fréquence des éruptions dues aux trois types de sérum. De temps en temps, l'on pouvait noter dans le service

une petite floraison d'éruptions plus marquées et cela au compte tantôt d'un sérum, tantôt de l'autre.

Il faut faire remarquer que les résultats ci-dessus ne doivent pas être considérés comme définitifs, en ce sens que les meilleurs appartiennent à un sérum polyvalent encore éloigné de ce qu'il doit être. Obtenu par des mélanges de sérums monovalents correspondant seulement à quatre des cinq types de bacilles diphtériques et à aucun des bacilles atypiques, le sérum pourra sans doute être amélioré en préparant chaque animal simultanément avec les cinq types et avec un certain nombre de bacilles aberrants. Peut-être verra-t-on, alors, diminuer encore la mortalité et disparaître les paralysies diphtériques.

La statistique que nous venons de présenter vérifie l'opinion que si la toxine est l'agent pathogène de beaucoup le plus important, elle n'est pas tout. « Le pouvoir antitoxique, indispensable n'est pas le seul à rechercher..., il faut que le sérum antidiphtérique possède d'autres propriétés » (Louis Martin, Prévot et Loiseau).

QUELQUES FAITS TOUCHANT LA PATHOGÉNIE DES PARALYSIES DIPHTÉRIQUES. — Barbier et Tollemer, Richardière et Tollemer, Zacchiri, avaient constaté aux autopsies de diphtériques la présence de bacilles dans les organes et particulièrement dans les centres nerveux. Avec notre élève et ami Poty, nous avons repris ces recherches sur 20 sujets qui ont donné lieu aux constatations suivantes :

Le bacille diphtérique a été trouvé :

Dans le foie dans	10 % des cas
Dans le rein dans	5 % —
Dans les ganglions trachéo-bronchi- que dans	50 % —
Dans le sang du cœur dans	15 % —
Dans la substance cérébrale (hémis- phères) dans	7,1 % —
Dans le bulbe dans	30 % —
Dans la protubérance dans	46,8 % —

Les bacilles diphtériques ont été trouvés à l'état pur ou associés, le plus souvent à du streptocoque ; ils se sont montrés dans tous les cas très virulents pour l'animal.

La propagation des bacilles par voie sanguine ou lymphatique explique mal cette localisation bulbo-protubérantielle élective.

Mais on ne saurait manquer de rapprocher la présence tout particulièrement fréquente du bacille dans la région bulbo-protubérantielle, du fait que les nerfs du pharynx, des amygdales, du voile du palais, se rendent dans cette partie de l'encéphale et aussi de ce que les paralysies diphtériques les plus fréquentes sont celles de muscles dont les nerfs ont leurs centres dans le bulbe et la protubérance. Une hypothèse se présente à l'esprit, à savoir que les bacilles diphtériques partis du pharynx et des amygdales suivraient les nerfs glosso-pharyngiens et pneumo-gastriques soit dans leur gaine lymphatique, soit encore le long des fibres nerveuses jusque dans les portions grises du bulbe et de la protubérance.

Là, l'endotoxine adhérente aux corps microbiens lèserait les cellules nerveuses et amènerait la paralysie.

Nous avons eu une première occasion, à l'autopsie d'une malade dont nous devons l'observation à notre Maître, le Docteur Bouchut, de faire des constatations qui plaident fortement en faveur de cette hypothèse.

OBSERVATION I

Il s'agit d'une jeune fille ayant eu une diphtérie méconnue et par conséquent non traitée par le sérum. Trois semaines environ après son angine, elle présente des troubles visuels qui la gênent dans sa profession de comptable ; quelques jours après, affaiblissement progressif des membres inférieurs et, au moment où elle entre à l'hôpital, on constate une impotence complète des membres inférieurs, une diminution considérable de la force des membres supérieurs, de la paralysie du voile et de la paralysie de l'accommodation. Elle meurt brusquement de syncope deux jours après son entrée dans le service.

Des cultures du mucus nasal et du mucus pharyngé faites pendant la vie, montrent un assez grand nombre de bacilles diphtériques.

À l'autopsie, le cerveau est prélevé aseptiquement en lui conservant adhérente la plus grande longueur possible de nerfs crâniens ou de leurs racines.

On ensemence des fragments du bulbe, de la protubérance, des hémisphères au niveau de la région rolandique et au niveau de la partie antérieure du lobe frontal. On cultive également un bulbe olfactif, les deux nerfs optiques y compris le chiasma, les deux nerfs moteurs oculaires communs dans le même tube que les moteurs oculaires externes et un pathétique, les faciaux, un auditif et, ensemble dans un même tube, toute la portion des racines qu'on

a pu recueillir du glosso-pharyngien, du pneumogastrique, du spinal et du grand hypoglosse. Au bout de 24 heures, les cultures du lobe frontal, du bulbe, de la protubérance, du bulbe olfactif, de la masse des derniers nerfs crâniens, sont positives et donnent des colonies très abondantes ; les cultures de la région rolandique, des nerfs optiques, des moteurs oculaires, faciaux et auditifs, sont restés stériles au bout de plusieurs jours.

Les souches isolées se sont montrées très virulentes pour le cobaye.

Il semble donc que les bacilles diphtériques aient utilisé toutes les voies nerveuses qui se présentaient à eux pour gagner les centres. Localisés d'abord dans le nez et le pharynx, ils sont montés par les nerfs olfactifs dans la région frontale et par les dernières paires crâniennes dans la région bulbo-protubérantielle.

Depuis cette première observation, l'obligeance du professeur Mouriquand nous a permis d'examiner avec la même technique les nerfs crâniens et l'encéphale de quatre sujets décédés de diphtérie.

L'un d'eux présente exactement la même histoire clinique que la malade du docteur Bouchut.

OBSERVATION II

Il s'agit d'une femme de 45 ans, ayant eu en février 1921 une angine dont la nature fut méconnue. Trois semaines après, elle est prise de paralysie du voile, puis des membres inférieurs. Elle entre à la Charité pour y mourir en moins de 24 heures. La culture décèle du bacille de Loeffler pur, en abondance dans les bulbes olfactifs et dans l'ensemble des racines des quatre dernières paires, dans l'intérieur du bulbe et de la protubérance. Par contre, les cultures faites avec le chiasma, les troisième et septième paires des fragments de la région rolandique et de la région frontale, restèrent stériles.

Les trois autres sont des enfants dont la phase angineuse ne passa pas inaperçue.

OBSERVATION III

Barb. Marie-Rose, 2 ans. Entre pour angine diphtérique le 22 décembre 1920. Les fausses membranes disparaissent assez rapidement et des cultures négatives de la gorge sont obtenues le 31 décembre et le 7 janvier. Rougeole le 7 janvier. Paralyse du voile le 12 janvier, s'étendant rapidement aux membres inférieurs. En même temps, signes de broncho-pneumonie. Mort le 16 janvier.

Les cultures du bulbe, de la protubérance, de la région rolandique, et de la presque totalité des racines ou nerfs crâniens ne donnèrent pas de Loeffler.

OBSERVATION IV

Darg. Georges, 8 ans 1/2. Entré le 26 février 1921 pour angine diphtérique très grave. Syndrome secondaire malin et mort le 4 mars 1921. L'enfant n'a pas eu de paralysie. Le bulbe, les bulbes olfactifs et l'ensemble des racines des nerfs bulbaires donnent des cultures pures et abondantes de bacille de Loeffler. Le chiasma, les 3^e, 5^e, 7^e et 8^e paires, la protubérance la région rolandique et la région frontale inférieure ne donnèrent pas de cultures.

OBSERVATION V

Lel... Marcel, 3 ans 1/2. Entre le 14 mars 1921 pour des phénomènes dyspnéiques, datant de 48 heures. Il a de plus une petite fausse membrane sur une amygdale. Le tubage est pratiqué immédiatement.

Le 16 mars se montrent des signes de broncho-pneumonie qui s'accroissent le lendemain. La mort survient le 19, surtout semble-t-il par broncho-pneumonie, dont l'autopsie montre des lésions bilatérales et étendues.

En culture sur sérum, on trouve des bacilles de Loeffler

dans les nerfs olfactifs, le moteur oculaire commun, le trijumeau, dans l'ensemble des nerfs bulbaires, dans la protubérance et le bulbe. Pas de bacilles dans la région rolandique, dans le chiasma, les 4^e, 7^e, 8^e paires.

En somme, sur cinq cas, le bacille a été trouvé dans quatre, à la fois dans la région protubérantielle, les bulbes olfactifs et les racines des nerfs bulbaires.

Cette statistique n'est pas encore assez importante pour établir fermement la pathogénie des paralysies diphtériques. Nous nous proposons, d'ailleurs, de continuer ces recherches. Cependant dès maintenant, la fréquence des bacilles dans le bulbe, la protubérance et dans les racines crâniennes provenant du rhino-pharynx, nous permet d'envisager que les bacilles peuvent quitter la fausse membrane, en suivant les nerfs qu'ils rencontrent. Par cette voie ils remontent aux centres nerveux, d'où ils peuvent ensuite diffuser dans d'autres régions (v. obs. V dans le nerf moteur oculaire commun et le trijumeau).

Une fois dans le bulbe, ils peuvent ou non provoquer des phénomènes pathologiques, conformément à des conditions de réceptivité ou d'immunité des malades qui nous échappent, et qui ne sont d'ailleurs pas les mêmes que celles de la diphtérie proprement dite causée par la toxine soluble. Que les deux immunités soient différentes, cela est prouvé par le fait que des paralysies peuvent évoluer chez un malade qui présente une réaction de Schick négative, comme l'ont montré les récentes discussions à la

Société Médicale des Hôpitaux de Paris, de Babonneix et Rist.

La progression des bacilles le long des nerfs s'accorde tout à fait avec l'hypothèse émise, dès 1903, par Rist, d'après laquelle les paralysies diphtériques seraient dues à l'endotoxine. Rist pensait qu'elles pourraient être influencées favorablement par un sérum antiendotoxique. C'est ce qu'ont démontré les statistiques présentées au cours de ce travail.

CONCLUSIONS

Arrivé à la fin de l'exposition de nos recherches, qui ont duré plus de trois ans et ont porté sur plus de 700 malades, nous croyons pouvoir résumer ainsi notre contribution personnelle à l'étude du bacille diphtérique et de la sérothérapie antidiphtérique.

Nous avons produit des sérums agglutinants à un très haut degré pour le bacille diphtérique, par des méthodes bien réglées, rapides, sans danger pour l'animal, (au moins chez le cheval). Nous avons obtenu aussi des sérums mixtes, tout aussi agglutinants, mais de plus fortement antitoxiques.

Ces sérums nous ont permis de délimiter cinq types de bacilles diphtériques, très distinctement individualisés par l'agglutination et de façon encore plus sûre par la saturation des agglutinines ; certains de ces types se différencient par leur pouvoir fermentatif électif pour certains hydrates de carbone. En dehors d'eux restent des échantillons de bacilles diphtériques, non classés encore.

L'observation clinique de malades traités comparativement par nos sérums mixtes et par des sérums antitoxiques, nous a montré la supériorité des sérums mixtes, en ce qui concerne les mortalités brute ou réduite, l'apparition de symptômes cardiaques, la durée du séjour des malades à l'hôpital. Mais la caractéristique de ces sérums est le pouvoir préventif vis-à-vis des paralysies, pouvoir d'autant plus intense qu'ils sont polyvalents.

La présence très fréquente de bacilles diphtériques dans le bulbe, la protubérance et dans les nerfs crâniens provenant du rhino-pharynx, nous inclinent à admettre que, de la fausse membrane, le bacille suit les nerfs qu'il rencontre pour se rendre dans le bulbe et la protubérance. Cette localisation élective du bacille et l'action antiparalytique du sérum antimicrobien confirment la pathogénie endotoxique des paralysies diphtériques.

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,
P. COURMONT.

Vu :

LE DOYEN DE LA FACULTÉ,
Jean LÉPINE.

Vu et permis d'imprimer :
Lyon, le 5 Juillet 1921.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
JOUBIN.

BIBLIOGRAPHIE

- AUCLAIR. — Recherches sur les poisons microbiens. Les poisons à détermination locale prédominante. *Arch. de Méd. exp. et d'Anat. path.* Nov. 1903.
- AVIRAGNET, BLOCH ET DORLENCOURT. — Les poisons endocellulaires du bacille diphtérique. *C. R. Soc. Biol.*, 4 mars 1911.
- BANDI — Ueber die Bereitung eines antibakteriellen Diphteriserums. *Centralblatt für Bakt.*, 1903, XXXIII, p. 535.
- BANDI. — Toxine et antitoxine du bacille de Loeffler. *Riv. di clinica pediatria*, 1906.
- BANDI ET GAGNONI. — *Rivista di clinica pediatria*, 1905.
- BARBIER ET TOLLEMER. — Présence du bacille diphtérique dans les organes. *Soc. Méd. hôp. de Paris*. 29 octobre 1897 et 11 nov. 1898.
- BELFANTI. — Ueber antitoxisches und antimikrobisches (bivalentes) Diphteriserum. 1908.
- BRIEGER ET BAER. — Ueber die Toxine der Diphterie und des Tetanos. *Deutsche Med. Woch.*, XXII, 1895, p. 783.
- BRUNO J. — Ueber Diphterieagglutination und Serodiagnostik. *Berliner Klin. Woch.*, 1898, p. 1127.
- CARY. — Virulence and toxin formation in *B. diphteriae*. *Journ. of infect. diseases*, 1916, XX, p. 244.

- CONCETTI. — Un sérum antibactérien dans le traitement de la diphtérie. *Rivista di clinica pediatria*, 1905.
- COSTA, TROISIER ET DAUVERGNE. — Action du bacille diphtérique et des faux diphtériques sur les sucres. *C. R. Soc. Biol.* 1918.
- CRUVEILHIER. — De l'existence d'une endotoxine dans le bacille de Loeffler nettement distincte de la toxine diphtérique. *C. R. Soc. Biol.*, 19 juin 1909, p. 1029.
- CRUVEILHIER. — Procédé des vaccinations subintrantes de Besreska appliqué au bacille diphtérique et au gonocoque. *C. R. Soc. Biol.*, 9 juillet 1910, p. 39.
- CRUVEILHIER. — Endotoxine diphtérique et sérum. *C. R. Soc. Biol.*, 21 janv. 1911, p. 110.
- DOPTER. — Action locale du sérum antidiphtérique. *Soc. Méd. des hôp. de Paris*, 1905, p. 303.
- DURAND P. — Classification des bacilles diphtériques par l'agglutination. *C. R. Soc. Biol.*, 16 nov. 1918, p. 1011.
- DURAND P. — Agglutination des bacilles diphtériques. Préparation des sérums. Techniques de l'agglutination et de l'adsorption des agglutinines. *C. R. Soc. Biol.*, 19 avril 1920, p. 611.
- DURAND P. — Les types de bacilles diphtériques déterminés par les épreuves d'agglutination et d'adsorption des agglutinines. *C. R. Soc. Biol.*, 19 avril 1920, p. 613.
- DURAND P. — Valeur thérapeutique du sérum antidiphtérique, antitoxique et antimicrobien (sérum mixte). *Journal de Médecine de Lyon*, 20 sept. 1920, p. 509.
- DURAND P. — Action des bacilles diphtériques sur les hydrates de carbone. *C. R. Soc. Biol.*, 23 mai 1921, p. 982.
- DURAND P. ET GUÉRIN. — Types de bacilles diphtériques et épidémiologie. *C. R. Soc. Biol.*, 23 mai 1921, p. 980.
- FRAENKEL C. — Zur Unterscheidung der echten und unechten Diphtherie-bacillus. *Hyg. Rundschau*, 1896, VI, n° 20. *Berliner Klin. Woch.*, 1897, p. 1087.
- GRAHAM SMITH. — Bacteriology of Diphtheria, 1908.
- HAVENS. — Biologic studies of the diphtheria bacillus. *Journ. of infect. diseases*, 1920, XXVI, p. 388.

- HINE. — *Journ. of Path. and Bact.*, 1913-14.
- KOLMER. — A study of diphtheria bacilli with special reference to complement fixation reaction. *Journ. of infect. diseases*, 1912, XI, p. 44.
- KOLMER ET MOSHAGE. — Acid production by diphtheria bacilli. *Journ. of infect. diseases*, 1916, XIX, p. 19.
- LAMBOTTE. — Des sensibilisatrices des bacilles diphtériques et pseudo-diphtériques. *Centralblatt f. Bakt.*, XXX, 1901, p. 817.
- LOUDSTEINER. — Ueber die Frage der Einverbibung sterilisierten Bakterienculturen. *Wiener Klin. Woch.*, 1897, p. 439.
- LANGER. — Die Agglutination der Diphtheriebacillen. *Centralblatt f. Bakt.*, 1916. Orig. LXXVIII, p. 117.
- LANGER. — Wege und Ziele der bakteriologischen Diagnostik. *Berliner Klin. Woch.*, 31 juillet 1916.
- LESIEUR. — De l'agglutination des bacilles dits pseudo-diphtériques. *C. R. Soc. Biol.*, 1901, p. 819.
- LESIEUR. — Les bacilles dits « pseudo-diphtériques ». Thèse, Lyon, 1901.
- LIPSTEIN. — *Deutsche Med. Woch.*, 1902.
- LIPSTEIN. — *Centralblatt f. Bakt.*, 1903, Origin. XXXIV, p. 421.
- LUBOWSKI. — Ueber einen atoxischen und avirulenten Diphtheriestamm und über die Agglutination der Diphtheriebacillen. *Zeitschrift für Hygien*, 1900, XXXV, p. 87.
- MARTIN L. — Production de la toxine diphtérique. *Ann. Inst. Past.*, 1898, XII, p. 26.
- MARTIN L. — Propriétés du sérum antidiphtérique. *C. R. Soc. Biol.*, 1903, p. 624.
- MARTIN L., PRÉVOT ET LOISEAU. — Sur le pouvoir agglutinant du sérum antidiphtérique. *C. R. Soc. Biol.*, 11 juin 1910, p. 1004.
- MARTIN, PRÉVOT ET LOISEAU. — Examen comparatif des pouvoirs antitoxique et agglutinant du sérum antidiphtérique. Leur valeur thérapeutique. *C. R. Soc. Biol.* 2 juill. 1910, p. 56.
- DE MARTINI. — Zur Differenzierung der Diphtherie von der

- Pseudo-diphtérie bacillen. *Centralblatt für Bakt.*, 1897, XXI, p. 87.
- MÉNARD. — Etude expérimentale de la toxine protoplasmique du b. de Loeffler. *C. R. Soc. Biol.*, 1911, p. 448.
- MÉNARD. — Les lipoides du bac. diphtérique. *C. R. Soc. Biol.*, 15 juin 1912.
- MORSE. — The application of the complement fixation reaction to the diphteria group of organisms. *Journ. of inf. diseases*, 1912, XI, p. 253.
- MORSE. — Study of diphteria group by biometrical method. *Journ. of inf. diseases*, 1912, p. 253.
- J. NICOLAS. — Pouvoir bactéricide du sérum antidiphtérique. *C. R. Soc. Biol.*, 23 nov. 1895. Th. Lyon, 1895.
- J. NICOLAS. — Production de la réaction de Grüber-Dürham par l'action du sérum antidiphtérique sur le bacille de Loeffler. *C. R. Soc. Biol.*, 25 juill. 1896.
- J. NICOLAS. — Même suj. Voir *C. R. Soc. Biol.*, 30 janv. 1897.
« 29 oct. 1898.
« 3 déc. 1898.
- NICOLLE. — Recherches sur la substance agglutinée. *Ann. Inst. Past.*, 1898, p. 186.
- NICOLLE ET LOISEAU. — Sur les deux propriétés essentielles du sérum antidiphtérique. *C. R. Soc. Biol.*, 2 juill. 1910, p. 8.
- NICOLLE, DEBAINS ET CÉSARI. — Précipitation mutuelle des toxines et des antitoxines. Application au titrage des sérums antidiphtériques et antitétaniques. *C. R. Acad. Sciences*, 1919.
- POTY. — De la présence du bacille de Loeffler dans les organes de diphtériques. Th. Lyon. 1920.
- PRZEWOSKI. — *Centralblatt für Bakt.* — Orig. LXV.
- PRIESTLEY. — *Proc. of Royal Soc of Med.*, 1911, v. p. 146.
- RICHARDIÈRE, TOLLEMER ET ULMANN. — Bacille diphtérique dans le sang et dans les centres nerveux. *Soc. Méd. des Hôp. de Paris*, 21 janv. 1898.
- VAN RIEMSDIJK. — *Centralblatt für Bakt.*, 1914. Orig. vol. LXXV.
- RIST. — Sur la toxicité des corps des bacilles diphtériques. *C. R. Soc. Biol.*, juillet 1903.

- RIST. — Pathogénie de certaines paralysies diphtériques
Revue des Maladies de l'enfance, 1904.
- SHICK ET ERSETTIG. — *Wiener Klin. Woch.*, 1903, p. 993.
- SCHMITZ. — Die Verknäufelungsfähigkeit der Bakterien.
Centralblatt für Bakt. Orig. vol. 77, p. 403.
- SCLUVONER. — Über Differenzierung der Diphtheriebacillen
von der Pseudo durch Agglutination. *Wiener Klin
Woch*, 1902, p. 1274.
- SPIEGELBERG. — *Centralblatt für Bakt*, 1914. Orig. vol.
LXXV.
- SPRONCK. — Le diagnostic bactériologique de la diphtérie
et les difficultés causées par les bacilles pseudo-
diphtériques. *Semaine Médicale*, 1897, p. 353.
- VAN DE VELDE. — Beitrag zur Kenntniss der antitoxischen
Kraft des Antidiphtherieserums. *Centralblatt für
Bakt*, 1897, XX, p. 527.
- WASSERMANN. — Ueber eine neue Art von Diphtherieserum.
Deutsche Med Woch, 30 oct. 1902, p. 785.
- WEILL-HALLÉ ET BLOCH MICHEL. — Diagnostic rapide de la
diphtérie par la méthode de la déviation du com-
plément. *Soc. Méd. des Hôp. de Paris*, 1910, p. 707.
- ZACCHIRI. — Recherches sur la généralisation du bacille
diphtérique. Th. Paris 1903.
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION.....	15
CHAPITRE I. Historique	20
CHAPITRE II. Technique et Matériel d'Etude.....	37
CHAPITRE III. Les types de bacilles diphtériques.....	64
CHAPITRE IV. Valeur thérapeutique du sérum antimicrobien.....	106
OBSERVATIONS.....	123
CONCLUSIONS.....	128
BIBLIOGRAPHIE.....	131

TRÉVOUX. — IMPRIMERIE J. JEANNIN
